



**UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI VERONA**

**DIPARTIMENTO DI MEDICINA**

**SCUOLA DI DOTTORATO IN SCIENZE DELLA VITA E DELLA SALUTE**

**DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE MEDICHE CLINICHE E SPERIMENTALI  
XXIV CICLO - ANNO 2009**

**Coordinatore: Prof. Enzo Bonora**

**“Clinical Project Management:  
dalla progettazione al monitoraggio di un trial clinico.”**

**Settore Scientifico Disciplinare: ENDOCRINOLOGIA**

**Tutor: Prof. Enzo Bonora**

**Dottorando: Dott.ssa Elena Tomasetto**

# INDICE

<b>Presentazione</b>	pag. 2
<b>Summary</b>	pag. 3
<b>Capitolo 1:</b> Introduzione	pag. 4
<b>Capitolo 2:</b> Pianificare e gestire i progetti : il Project Management	pag. 7
1. Progetto, Project Management e Project Manager	pag. 7
2. Le aree del Project Management	pag. 10
3. Il piano operativo di progetto	pag. 15
<b>Capitolo 3:</b> La sperimentazione clinica dei medicinali e il ‘clinical project management’	pag. 17
1. Classificazione degli studi condotti sull’uomo	pag. 17
2. Modalità di richiesta di autorizzazione per la conduzione di uno studio clinico	pag. 19
3. Good Clinical Practice (GCP): una garanzia di validità ed eticità	pag. 21
4. La sperimentazione clinica sui minori	pag. 22
5. La sperimentazione clinica in Italia	pag. 22
6. Il ‘clinical project management’	pag. 23
<b>Capitolo 4:</b> Gli studi seguiti in qualità di Clinical Project Manager: le attività svolte e i risultati conseguiti	pag. 25
1. Studio ‘Tosca’	pag. 25
2. ‘Meccanismi candidati di aterogenesi durante il periodo post-prandiale nel bambino/adolescente obeso’	pag. 34
3. Studio ‘VR_PAN’	pag. 40
4. ‘Lo ione $Mn^{2+}$ come sonda molecolare in vivo dell’attività dei canali del $Ca^{2+}$ del pancreas endocrino: uno studio pre-clinico’	pag. 44
5. Relazione fra le attività svolte negli studi clinici e le aree di project management	pag. 52
<b>Capitolo 5:</b> Il piano operativo di progetto applicato alla pianificazione e alla gestione degli studi clinici	pag. 54
<b>Capitolo 6:</b> Valutazione dei ricercatori sull’utilità della figura del ‘clinical project manager’ nella gestione di studi clinici	pag. 59
<b>Capitolo 7:</b> Conclusioni e sviluppi futuri	pag. 61
<b>Bibliografia</b>	pag. 63

# **PRESENTAZIONE**

La necessità di garantire che gli studi clinici abbiano le caratteristiche di validità, eticità e valore scientifico ha portato a regolamentare la ricerca clinica in maniera molto stretta. Per questo, dopo la nascita nel 1982 delle Good Clinical Practice (GCP), sono stati introdotti in Italia, così come in altri Paesi, moltissimi decreti e circolari che hanno notevolmente aumentato la complessità normativa della ricerca clinica. Ciò è andato di pari passo con l'affinamento delle tecniche e delle metodologie, un obiettivo sul quale industrie farmaceutiche, autorità regolatorie e ricercatori indipendenti hanno lavorato e ancora stanno lavorando in maniera congiunta.

Tutto questo ha fatto della ricerca clinica un campo così complesso che per una buona gestione degli studi molte istituzioni hanno avvertito la necessità di introdurre all'interno dei loro gruppi di ricerca figure professionali con formazione scientifica, conoscenze regolatorie e competenze di project management col compito di assistere e sovrintendere il team e le attività durante tutte le fasi di un trial clinico. Tale figura è il 'clinical project manager'.

Obiettivo del presente Dottorato di Ricerca è stato:

- 1- gestire, in qualità di clinical project manager, alcuni studi clinici condotti dalla Sezione di Endocrinologia, Diabetologia e Metabolismo del Dipartimento di Medicina dell'Università degli Studi di Verona;
- 2- sviluppare un sistema di pianificazione e gestione degli studi clinici;
- 3- sottoporre agli sperimentatori coi quali si è collaborato un questionario per valutare l'utilità della figura del clinical project manager nella gestione di studi clinici e ipotizzare così possibili sviluppi futuri di questa figura professionale.

# SUMMARY

The need that validity, ethic and scientific value occur in the conduction of a clinical trial has severely increased the number of ethical and legal requirements in the last decades. For this reason, the introduction of Good Clinical Practice (GCP) in 1982, has been followed by a big number of decrees in Italy, as well as in other Countries, making regulatory complexity in clinical research even greater.

At the same time techniques and methodologies to conduct clinical trials have highly improved, reaching a common target for pharmaceutical companies, regulatory authorities and researchers.

For all these reasons clinical research has become a complex field. In order to have a good management of clinical trials, a lot of research units have expressed the need to introduce in their research staff specialists with a scientific background, a good regulatory knowledge and project management skills to coordinate the team and the activities of a clinical trial. This specialist is the 'clinical project manager'.

The aim of this PhD was:

- 1 - to manage, with the role of clinical project manager, clinical studies conducted by the Section of Endocrinology, Diabetology and Metabolism of Medicine Department of Verona University;
- 2 - to develop an operating system to plan and manage clinical trials;
- 3- to submit a questionnaire to the investigators met during the PhD, in order to understand their opinion about the utility of a clinical project manager in a research team and to suppose future development of this professional figure.

# CAPITOLO 1

## Introduzione

La storia dell'uomo è piena di esempi poco edificanti sulla modalità di sperimentazione dei nuovi farmaci. Sono molteplici i casi in cui sono stati usati come soggetti per la sperimentazione umana prigionieri, schiavi, familiari. In alcuni casi i medici hanno condotto esperimenti addirittura su se stessi. Nel 1700 un caso famoso fu quello di Edward Jenner che testò il vaccino del vaiolo su suo figlio. In un esempio di auto-sperimentazione, Johann Jorg ingerì invece 17 farmaci in varie dosi per verificarne gli effetti. Ma le atrocità peggiori e su larga scala furono condotte nei campi di concentramento dove farmaci e pratiche mediche furono sperimentate su un elevatissimo numero di deportati. Purtroppo gli esempi arrivano fino agli anni '50, con sperimentazioni effettuate su soldati, prigionieri, pazienti psichiatrici o addirittura sull'intera comunità ('Esperimento di Porton Down', 'Operation Big City', 'Progetto Shad') ovviamente ignara di essere usata per valutare malattie, azione di farmaci o ancor più spesso per vedere l'effetto di agenti chimici e biologici che sarebbero poi serviti come armi di guerra. Negli stessi anni, in quello noto come 'Tuskegee syphilis experiment' quattrocento uomini di colore con la sifilide non vennero curati in modo da studiare l'effetto della malattia sull'uomo e in Guatemala alcuni ricercatori americani usarono delle prostitute per infettare con la sifilide e altre malattie sessuali prigionieri e malati mentali per studiare l'efficacia della penicillina.

Ai casi citati di assoluta mancanza di eticità nella sperimentazione si aggiunsero tragici esempi di errata metodologia. E' il ben noto caso della talidomide, farmaco in commercio per limitare la nausea nei primi mesi di gestazione che causò tra gli anni 1957 e 1960 la nascita di un ingente numero di bambini focomelici. Il farmaco non era mai stato sperimentato su donne in gravidanza e purtroppo la tragica scoperta dei suoi effetti fu fatta quando ormai il danno era irreparabile.

Questi atroci errori sul piano etico e metodologico, uniti ad un boom nella scoperta di un elevato numero di principi attivi tra gli anni '50 e '60, rese necessario regolamentare l'eticità e la metodologia della ricerca clinica. Nel 1964, nel corso della 18° World Medical Assembly tenutasi ad Helsinki, fu redatta la Dichiarazione di Helsinki sui 'Principi etici per la ricerca medica che coinvolge i soggetti umani'. Essa era la reinterpretazione del Codice di Norimberga originato da quanto emerso durante il processo che si svolse nell'omologa città contro i medici nazisti. Già il Codice di Norimberga affermava la necessità di un consenso informato dato dal soggetto partecipante alla sperimentazione. La Dichiarazione di Helsinki introdusse l'esigenza di un comitato

etico indipendente per l'esame dei protocolli sperimentali, sottolineò la facoltà del soggetto di ritirare il consenso in qualsiasi momento e la necessità di prendere ogni precauzione per rispettare la riservatezza del soggetto e per minimizzare l'impatto dello studio sulla sua integrità fisica, mentale e sulla sua personalità. Punto fondamentale della Dichiarazione è la salvaguardia degli interessi dell'uomo oggetto della ricerca che deve sempre prevalere sugli interessi della scienza e della società.

Nel 1982 la Food and Drug Administration (FDA) statunitense mise insieme una serie di norme per la conduzione degli studi clinici: nascevano le Good Clinical Practice (GCP), recepite in Italia col Decreto Ministeriale 15 luglio 1997 (1).

Alle GCP fece seguito un elevato numero di decreti e circolari nazionali che hanno notevolmente aumentato la complessità regolatoria per l'autorizzazione e la conduzione degli studi clinici. L'aumento degli aspetti normativi è andato di pari passo con l'affinamento delle metodologie e delle tecniche di ricerca. Non bisogna infatti dimenticare che lo sviluppo di un nuovo farmaco (FIGURA 1) è un processo costoso e molto lungo dal momento che dalla sintesi alla commercializzazione passano in media 12 anni e il rischio di insuccesso è molto alto. Su oltre 10.000 molecole sintetizzate solo 1 o 2 arrivano sul mercato e circa il 50% dei fallimenti sono dovuti a mancanza di efficacia o a problemi di tollerabilità. Negli Stati Uniti e in Europa, le aziende farmaceutiche hanno più che triplicato negli ultimi anni le loro spese per ricerca e sviluppo (R&S). Quasi l'85% della R&S è investita per nuovi prodotti, mentre il 15% è destinato a miglioramenti o modifiche significative di prodotti esistenti. La collaborazione tra industrie farmaceutiche, autorità regolatorie e mondo accademico è quindi diventata sempre più stretta al fine di identificare tecniche e modelli in grado di accelerare lo sviluppo dei nuovi farmaci, riducendone anche i costi in termini di risorse umane e denaro investito.



**FIGURA 1:** le fasi di sviluppo di un farmaco

Per tutto quanto sopra descritto, quello della ricerca clinica è diventato un campo molto complesso e la gestione degli studi clinici ha richiesto l'introduzione di nuove figure professionali con competenze specifiche (scientifiche e cliniche, regolatorie, statistiche, informatiche, legali etc.). Se è vero infatti che un protocollo ben strutturato può rispondere a quesiti clinici è altrettanto vero che questo non basta a garantire il successo di uno studio che spesso fallisce per una mancanza di gestione adeguata del tempo, delle risorse umane ed economiche (2).

In un articolo dell'European Medicines Agency (EMA) (3) si citano le principali aree critiche che potrebbero minare la qualità di un trial clinico:

- costo e risorse disponibili
- tempistiche da rispettare
- mancanza di identificazione delle priorità
- mancanza di comprensione delle criticità e di azioni preventive
- mancanza di attività di controllo della qualità dello studio
- mancanza di comprensione degli obiettivi
- frammentazione dei ruoli e assenza di coordinamento
- complessi aspetti regolatori
- disegno dello studio inadeguato.

Queste criticità possono da un lato mettere in discussione la credibilità dei dati ma ancor peggio possono mettere a repentaglio i diritti e la sicurezza dei soggetti che partecipano ad uno studio clinico. Per evitare ciò un numero sempre crescente di team di ricerca sta adottando la figura del 'clinical project manager' quale figura di coordinamento che abbia:

- competenze in ambito regolatorio;
- conoscenze e formazione scientifica per comprendere lo studio ed essere in grado di supervisionarlo;
- esperienza nella gestione di progetti e nel coordinamento di un team;

tutto ciò al fine di garantire che gli studi clinici siano condotti nel rispetto degli obiettivi, dei tempi e del budget, garantendo al contempo la qualità e la conformità ai requisiti di legge.

Se il project management è una disciplina che nasce già alla fine degli anni '50 in risposta alla richiesta di una maggior analisi e attenzione sulle dimensioni, sullo scopo, sulla durata e sulle risorse richieste dei nuovi progetti, poco si è scritto ad oggi sull'applicazione del project management nell'ambito della ricerca clinica.

# CAPITOLO 2

## Pianificare e gestire progetti: il Project Management

### 1. Progetto, Project Management e Project Manager

Un **progetto** è uno sforzo temporaneo (con un inizio ed una fine) intrapreso allo scopo di creare un prodotto, un servizio o un risultato utilizzando delle risorse quali team di progetto, strumenti e mezzi, risorse economiche e tempo (76).

Il **project management** è l'applicazione di conoscenze, skill, strumenti e tecniche alle attività di progetto al fine di soddisfarne i requisiti (76). Punto focale del project management è la capacità delle persone di governare le componenti dell'ambiente lavorativo: risorse tecnico-strumentali, attività e compiti, persone, tempi e risorse economico-finanziarie con logiche e tecniche precise e consolidate.

Gli obiettivi del project management sono:

- ✓ definire gli obiettivi da raggiungere
- ✓ individuare le risorse necessarie per il raggiungimento di questi obiettivi
- ✓ pianificare le attività per il raggiungimento degli obiettivi
- ✓ monitorare costantemente il lavoro svolto
- ✓ definire i criteri di valutazione del risultato
- ✓ valutare il risultato
- ✓ chiudere il progetto una volta che gli obiettivi sono stati raggiunti e il risultato è considerato accettabile.

Il **project manager** è la persona incaricata della gestione del progetto al fine di raggiungere gli obiettivi nel rispetto di costi, tempi e garantendo le caratteristiche tecniche e di qualità del risultato (76). La gestione del progetto include :

- ✓ l'individuazione di obiettivi chiari e raggiungibili
- ✓ l'individuazione del giusto equilibrio tra le esigenze di qualità, tempi e costi
- ✓ la gestione dei rapporti con lo sponsor e il suo aggiornamento sullo stato di avanzamento
- ✓ la gestione del rischio inteso come un evento o una condizione incerta che verificandosi ha un effetto almeno su un obiettivo del progetto
- ✓ il coordinamento del team di progetto e la definizione di ruoli e responsabilità



- ✓ l'integrazione con i responsabili delle unità organizzative che partecipano al progetto
- ✓ il controllo dei risultati raggiunti.

Il project manager deve avere specifiche competenze, conoscenze e capacità quali: competenze gestionali, conoscenze tecniche, conoscenza degli standard e dei regolamenti, comprensione del contesto del progetto, capacità nei rapporti interpersonali intesa come comunicazione efficace, capacità di influenzare la struttura organizzativa, leadership, motivazione, negoziazione, gestione dei conflitti e risoluzione dei problemi. I ruoli del project manager possono essere così distinti (77):

- ✓ ruolo interpersonale:
  - costituisce il collegamento tra tutte le figure che partecipano al progetto
  - ha un ruolo centrale nella gestione dei conflitti e nella creazione di un clima di fiducia e motivazione
  - è il rappresentante dell'organizzazione nelle questioni formali (ad esempio nei rapporti con lo sponsor)
- ✓ ruolo informativo: la posizione del project manager è centrale per quanto riguarda la circolazione delle informazioni in quanto egli è in grado di collegare i flussi informativi provenienti dalle risorse interne con quelli derivanti dalle risorse esterne garantendo in questo modo una comunicazione efficace
- ✓ ruolo decisionale, relativamente a:
  - modalità di azione rispetto ai cambiamenti da mettere in atto
  - gestione delle difficoltà che possono minacciare il progetto
  - pianificazione e approvvigionamento di risorse.

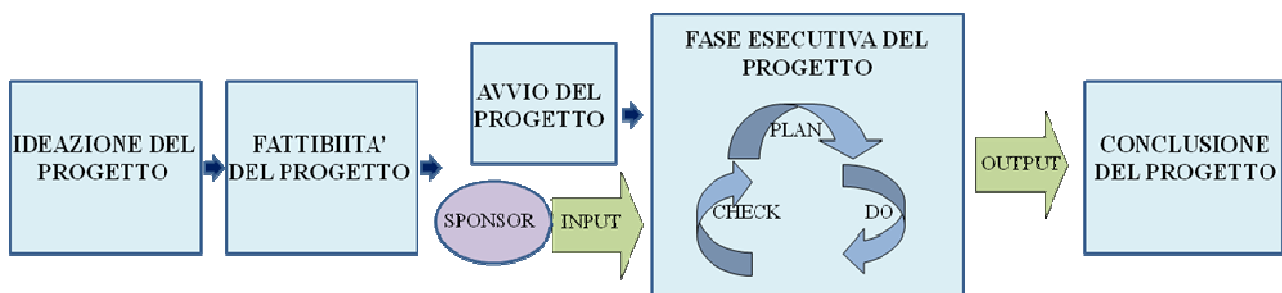
## **1.1 Le fasi del progetto**

Il progetto può essere diviso in più fasi al fine di garantirne un più accurato controllo. Una fase di progetto termina in genere con una revisione del lavoro svolto e la verifica degli obiettivi al fine di poterla considerare chiusa.

La prima fase di un progetto è generalmente quella di ideazione ovvero di intuizione di un obiettivo da raggiungere e di una prima definizione delle sue caratteristiche. Segue la fase di fattibilità in cui si valuta se, considerando i tempi, i costi e le risorse il progetto può essere eseguito. Vi è quindi una fase di avvio che definisce ed autorizza il progetto ed una fase esecutiva che costituisce il cuore del progetto. La fase esecutiva si compone di sottofasi ognuna delle quali prevede un processo di pianificazione (definisce e perfeziona gli obiettivi e progetta lo svolgimento delle azioni necessarie per il loro raggiungimento), esecuzione (integra persone ed altre risorse per

l'attuazione del piano di progetto) e monitoraggio (misura e monitora regolarmente l'avanzamento del progetto per identificare scostamenti dagli obiettivi al fine di consentire eventuali azioni correttive). Infine vi è la fase di chiusura che formalizza l'accettazione del risultato e consente la chiusura del progetto. Rientra tra i ruoli del project manager il controllo del corretto fluire delle attività da una fase all'altra.

I progetti si basano su input, generalmente forniti dallo sponsor del progetto e generano degli output. (FIGURA 2)



**FIGURA 2:** le fasi di un progetto

Se ad esempio l'area applicativa è quella della ricerca clinica e il progetto è uno studio clinico, l'ideazione, se si tratta di uno studio sponsorizzato, è generalmente fornita dallo sponsor, viceversa se si tratta di uno studio spontaneo è un ricercatore o un gruppo di ricercatori che individuano degli obiettivi di rilevanza scientifica per la verifica dei quali viene progettato lo studio. La fattibilità dello studio (spesso formalizzata in un 'questionario di fattibilità') consiste nel valutare se nelle tempistiche richieste si è in grado di garantire un certo numero di soggetti da arruolare nello studio utilizzando mezzi e risorse che siano coperte da un budget concordato con lo sponsor; ciò deve essere fatto considerando il bacino di pazienti nella specifica area terapeutica in cui lo studio si svolge e l'eventuale concomitanza di studi competitivi che tolgano risorse e pazienti allo studio che si sta valutando. Uno studio può avere avvio quando l'iter autorizzativo (sancito dalla delibera del Direttore Generale o dall'autorizzazione dell'Istituto Superiore di Sanità a seconda della tipologia e fase dello studio) ed amministrativo (sancito dalla firma del contratto) sono conclusi. La fase esecutiva di uno studio clinico può essere distinta in: fase di pre-studio, di studio e di post-studio ognuna a loro volta divisibile in sottofasi. Ognuna di queste fasi esecutive prevede specifiche attività che devono essere pianificate, eseguite e controllate.

Gli input sono obiettivi da raggiungere in un determinato tempo prefissato (arruolamento di n soggetti valutabili in n mesi, inserimento nel database dello sponsor dei dati raccolti in n giorni etc.) e generalmente sono descritti nel contratto. Sono da considerare input anche gli obiettivi dello studio descritti nel protocollo. Uno studio clinico produrrà degli output che sono la realizzazione

delle attività previste dal contratto che, in ultima analisi, consentono di dare delle risposte agli obiettivi dello studio; tali risultati vengono descritti in un clinical study report che sancisce formalmente la fine dello studio.

## 2. Le aree del Project Management

Nella FIGURA 3 sono riportate le aree di Project Management così come descritte nel Project Management Body of Knowledge (terza edizione) (76). Viene fatta quindi di seguito una breve descrizione di queste aree soffermandosi su quelle che trovano applicazione nella ricerca clinica come sarà successivamente descritto al capitolo 4.

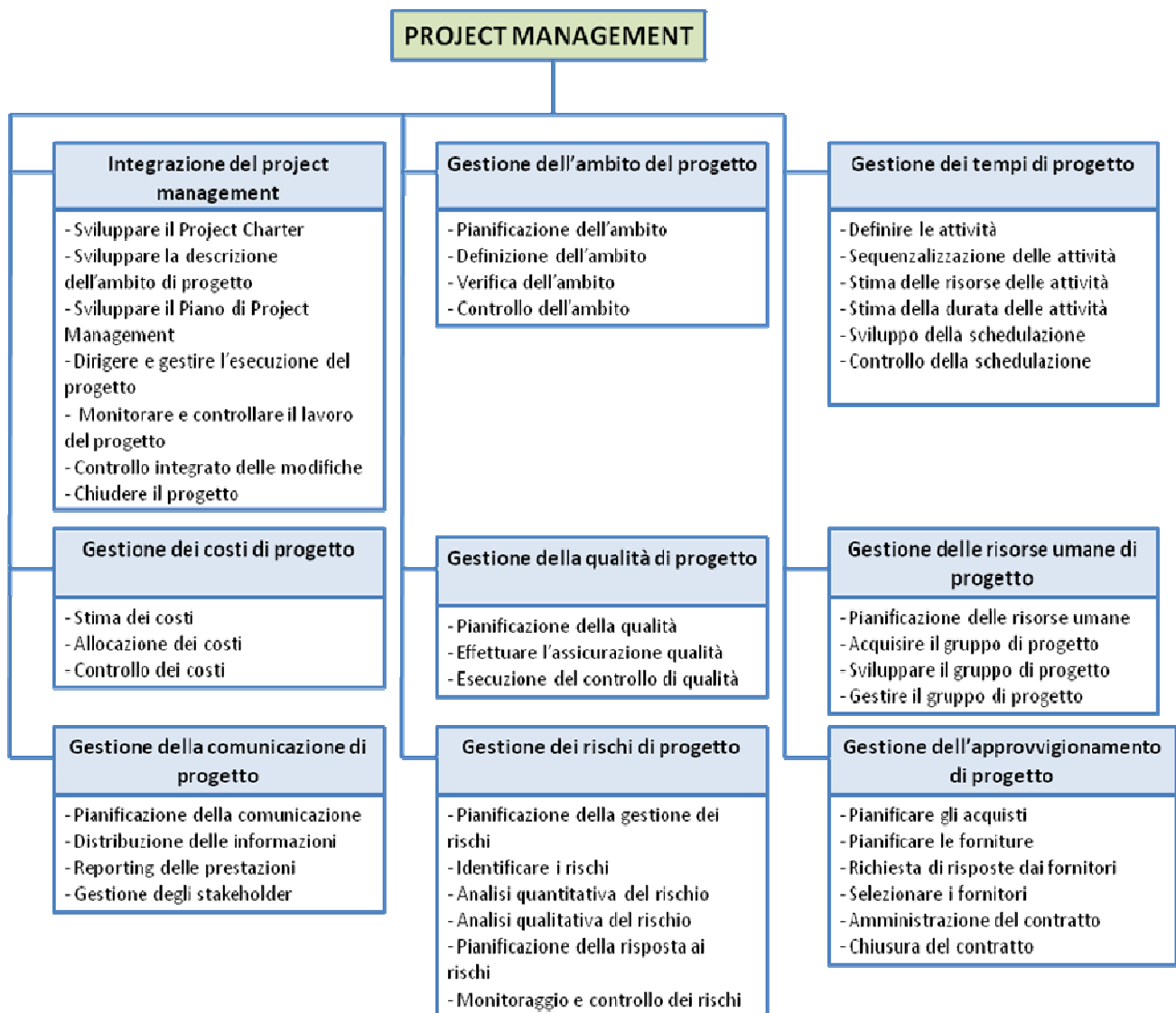


FIGURA 3: le aree del project management

## **2.1 Gestione dell'integrazione di progetto**

La gestione dell'integrazione di progetto comprende i processi e le attività necessari per identificare, definire, combinare, unificare e coordinare i vari processi e le attività di project management. Fanno parte di questa area la gestione dell'esecuzione, del monitoraggio e della chiusura di progetto. Gestire l'esecuzione di un progetto significa:

- ✓ eseguire attività per il conseguimento degli obiettivi
- ✓ investire fondi per il raggiungimento degli obiettivi
- ✓ acquisire, formare e gestire i membri del team
- ✓ implementare i metodi e gli standard pianificati
- ✓ verificare e convalidare i risultati
- ✓ gestire i rischi ed implementare le attività di risposta mettendo in atto azioni correttive e preventive
- ✓ ottenere preventivi, selezionare e gestire i fornitori
- ✓ adottare le modifiche approvate inserendole nel piano di progetto
- ✓ stabilire e gestire i canali di comunicazione, sia interni che esterni
- ✓ raccogliere i dati del progetto e segnalarne costi, schedulazione, avanzamento e qualità.

Il monitoraggio è un elemento fondamentale del project management eseguito per l'intera durata del progetto e consente di raccogliere, misurare e diffondere le informazioni sulle prestazioni al fine di individuare le aree che richiedono una particolare attenzione e mettere in atto eventuali azioni di miglioramento (46).

## **2.2 Gestione dell'ambito di progetto**

La gestione dell'ambito di progetto comprende i processi necessari ad assicurare che il progetto includa tutto il lavoro e soltanto il lavoro richiesto al fine del suo completamento con successo. Il suo obiettivo primario è definire che cosa deve essere portato a termine. L'ambito di progetto comprende:

- ✓ gli obiettivi
- ✓ i requisiti del progetto: caratteristiche che i risultati devono possedere per essere accettabili
- ✓ gli output
- ✓ i vincoli come ad esempio il budget predefinito, una data impostata, i termini del contratto
- ✓ la stima dei costi.

Uno strumento di verifica dell'ambito del progetto è l'ispezione che prevede attività quali la misurazione, l'esame e la verifica che consentono di determinare se il lavoro e i risultati rispondono ai requisiti e ai criteri di accettazione finali (76).

### **2.3 Gestione dei tempi e dei costi di progetto**

La gestione dei tempi di progetto comprende i processi necessari ad assicurare il completamento del progetto nei tempi previsti. Si basa non solo sulla stima della durata delle attività ma anche sulla stima del tipo, della quantità e di quando ogni risorsa sarà necessaria per eseguire queste attività. La gestione del tempo può essere agevolata dalla sequenzializzazione che consiste nel disporre le attività in sequenza logica con relazioni di precedenza e dallo sviluppo di un calendario, ovvero dalla determinazione della data d'inizio e fine pianificata e l'individuazione di attività cruciali (milestone). La calendarizzazione è uno strumento che consente di monitorare le date effettive permettendo così di seguire l'avanzamento del progetto e di confrontarle con quelle pianificate consentendo una valutazione delle prestazioni basata sullo scostamento dei tempi (76).

La gestione dei costi di progetto, che è intimamente legata alla gestione del tempo, comprende i processi coinvolti nella pianificazione, stima, allocazione e controllo dei costi affinché il progetto venga completato nel rispetto del budget approvato (76).

### **2.4 Gestione della qualità del progetto**

La qualità può essere definita come 'l'insieme delle proprietà e delle caratteristiche che forniscono al prodotto la capacità di soddisfare esigenze espresse o implicite' (Norma UNI-ISO 8402). La gestione della qualità di progetto comprende tutte quelle attività che garantiscono che il progetto abbia tutti i criteri di qualità richiesti. Consiste in:

- ✓ pianificazione della qualità: identificazione degli standard rilevanti e determinazione del modo in cui soddisfarli
- ✓ assicurazione della qualità: esecuzione delle attività pianificate per garantire che il progetto utilizzi tutti i processi necessari per soddisfare i requisiti di qualità
- ✓ controllo della qualità: monitoraggio di specifici risultati del progetto per determinare la conformità agli standard di qualità ed individuare metodi per eliminare le cause di risultati non soddisfacenti. Il controllo di qualità può anche essere effettuato attraverso 'ispezioni' o 'audit' condotte da enti terzi (76).

Un buon sistema di qualità ha un impatto anche sui costi del progetto dal momento che prevenire gli errori ha generalmente un costo inferiore che non correggerli una volta emersi.

## **2.5 Gestione delle risorse umane di progetto**

La gestione delle risorse umane di progetto (staff o team) comprende i processi di organizzazione e gestione delle persone a cui sono stati assegnati ruoli e responsabilità. Consiste in:

- ✓ pianificazione delle risorse umane: identificazione e documentazione dei ruoli e della responsabilità
- ✓ sviluppo del gruppo di progetto: miglioramento delle competenze attraverso un piano di formazione e dell'interazione tra i membri del gruppo al fine di incrementare le prestazioni
- ✓ gestione del gruppo di progetto: rilevazione delle prestazioni dei membri del gruppo (76).

La fase del progetto in cui vi è la maggior richiesta di risorse è quella di esecuzione, le risorse possono invece essere ridotte nella fase iniziale e finale (77). Nella gestione delle risorse umane hanno una grande importanza le capacità interpersonali ('soft skill') del project manager. Qualità come l'empatia, la capacità di esercitare la propria influenza, la creatività e l'agevolazione del gruppo sono punti di forza quando si gestisce un team. Le caratteristiche che un project manager dovrebbe avere per essere in grado di gestire un gruppo sono:

- ✓ capacità di alimentare relazioni
- ✓ abilità nel risolvere i conflitti
- ✓ bravura nell'analisi sociale, cioè nell'individuare gli interessi, le motivazioni e le emozioni degli altri
- ✓ capacità di organizzare gruppi
- ✓ capacità di gestire le proprie emozioni.

Un aspetto molto importante della gestione delle risorse umane è la gestione dei conflitti. Un'efficace gestione dei conflitti migliora la produttività e le relazioni e le differenze individuali diventano un fattore di ricchezza anziché di ostacolo. Alcune pratiche di project management come la pianificazione delle comunicazioni e la definizione dei ruoli dovrebbero ridurre la portata dei conflitti. Normalmente i conflitti interni tendono ad essere risolti dallo stesso gruppo di progetto, se il conflitto si aggrava il project manager deve intervenire per garantirne la risoluzione.

Un altro aspetto molto importante è la condivisione degli obiettivi. Le risorse devono infatti operare congiuntamente per ottenere il medesimo risultato e lo spirito da cui devono essere mosse deve essere quello della collaborazione. Per far ciò è molto importante che gli obiettivi siano chiari e condivisi. La condivisione degli obiettivi rientra nell'ambito della comunicazione di progetto.

Infine, ma non di minor importanza, un altro elemento che influenza la prestazione individuale e di gruppo è la motivazione. Il project manager deve far leva sulla motivazione del team attraverso l'analisi, la comprensione e l'azione su aspettative e bisogni, la determinazione di chiari obiettivi di progetto, il rinforzo dei comportamenti desiderati, la delega e il coinvolgimento del team ai processi decisionali (76,77).

## **2.6 Gestione della comunicazione di progetto**

La gestione della comunicazione di progetto è un'area che utilizza i processi necessari ad ottenere tempestivamente la generazione, la raccolta, la distribuzione e l'archiviazione delle informazioni di progetto. Deve garantire che le persone giuste ricevano le informazioni corrette nei tempi previsti. E' un argomento piuttosto vasto che riguarda:

- ✓ la scelta dei mezzi di comunicazione
- ✓ le tecniche di presentazione
- ✓ le tecniche di gestione delle riunioni (76).

Interessa non solo la comunicazione all'interno del team ma anche la comunicazione con lo sponsor e la comunicazione con i responsabili delle altre unità che collaborano al progetto. Per quanto riguarda la comunicazione all'interno del team, la condivisione di obiettivi e conoscenze è il presupposto per il lavoro collaborativo. Un'appropriata comunicazione con lo sponsor diminuisce la possibilità che il progetto risulti deviato rispetto agli obiettivi iniziali, migliora la sinergia e limita le interruzioni nel corso dello svolgimento del progetto (77).

Le principali fasi della vita di un progetto sono generalmente accompagnate da altrettante riunioni, di inizio, avanzamento e conclusione del progetto.

## **2.7 Gestione dei rischi di progetto**

La gestione dei rischi di progetto riguarda la conduzione dei processi legati alla pianificazione della gestione dei rischi, alla loro identificazione e analisi, alla preparazione delle risposte ai rischi, al loro monitoraggio e controllo nel corso del progetto, nonché alla prevenzione dei rischi noti (76). Il grado di rischio maggiore deriva dalla tensione e dalla insicurezza che le persone hanno all'inizio di un progetto. Il rischio e cala invece nel corso del progetto (77).

Una caratteristica che il project manager deve avere è quella di essere un buon 'controllore' piuttosto che un buon 'pianificatore', nella gestione dei progetti risulta infatti più importante saper gestire l'imprevisto che non prevedere l'imprevedibile. Il fatto di individuare e condividere gli

obiettivi, di assegnare le risorse con certe competenze, di chiarire le responsabilità, di fissare dei punti di controllo, sono tutti elementi che tendono ad abbassare il livello di incertezza del progetto e il rischio (77). Le riunioni di team sono un momento importante per discutere la gestione e la prevenzione dei rischi.

## **2.8 Gestione dell'approvvigionamento del progetto**

La gestione dell'approvvigionamento di progetto comprende i processi di acquisizione di prodotti, servizi o risultati da entità esterne al gruppo di progetto allo scopo di eseguire il lavoro. Rientrano in quest'area:

- ✓ la gestione del contratto
- ✓ la selezione dei fornitori (76).

## **3. Il piano operativo di progetto**

Per limitare i rischi, le tensioni, le insicurezze e per gestire al meglio tutte le aree descritte al paragrafo 2, il project manager deve definire un piano operativo di progetto. Il piano operativo è uno strumento di pianificazione e gestione che consente di guidare le fasi tecniche di un progetto.

Come dice la definizione è uno strumento:

- ✓ di pianificazione, ossia di definizione delle attività da svolgere identificando eventuali dipendenze sequenziali, di allocazione delle risorse, di definizione di tempi e costi
- ✓ di gestione, ossia consente di monitorare il reale andamento del progetto e, sostituendo i dati pianificati con quelli a consuntivo, consente di rivedere calcoli e stime e di valutare scostamenti di tempo e costi.

Un piano operativo di progetto deve comprendere i seguenti punti:

- ✓ attività da svolgere: quali attività devono essere fatte
- ✓ assegnazione: chi le deve fare
- ✓ calendarizzazione: quando si deve farle
- ✓ definizione delle risorse economiche: quanto costano
- ✓ sistema di controllo: come verificarle (77).

Un piano operativo di progetto deve inoltre riportare le date fisse, come ad esempio quelle di inizio e fine del progetto o quelle di attività fondamentali (milestone) dalle quali dipendono tutte le



altre. Un'applicazione del piano operativo di progetto agli studi clinici verrà presentato al capitolo 5.

# CAPITOLO 3

## La sperimentazione clinica dei medicinali e il ‘clinical project management’

### 1. Classificazione degli studi condotti sull’uomo

Secondo la definizione della World Health Organization (WHO) per **studio clinico** si intende ‘uno studio che assegna i soggetti partecipanti ad uno o più ‘interventi’ associati alla loro salute per valutarne l’effetto su questa.’ Per ‘interventi’ non si intendono solo farmaci, ma anche cellule e altri prodotti biologici, procedure chirurgiche e radiologiche, dispositivi medici, cure preventive e trattamenti comportamentali.

Gli studi clinici sono classificati in 4 fasi:

✓ Studi di Fase 1:

Condotti su un numero limitato di soggetti nella maggior parte dei casi volontari sani. Questi studi permettono di valutare la tollerabilità, la farmacocinetica e la farmacodinamica di un prodotto.

✓ Studi di Fase 2:

Condotti su un numero limitato e ben caratterizzato di pazienti. Permettono di determinare la sicurezza del farmaco a breve termine e l’attività farmacologica sul target.

✓ Studi di Fase 3:

Condotti su un numero ampio di pazienti per meglio valutare l’efficacia e la sicurezza del farmaco su un campione ampio di pazienti.

✓ Studi di Fase 4:

E’ la fase post-registrativa che avviene in seguito all’immissione in commercio del farmaco. Serve per valutare l’efficacia ma soprattutto la tollerabilità su larga scala in condizioni molto vicine alla realtà (ad es. su pazienti che assumono altre terapie concomitanti). La compagnia farmaceutica conduce spesso questi studi per confrontare l’efficacia o la tollerabilità del nuovo farmaco rispetto ad altri composti in commercio.

Diversi sono i decreti che regolamentano gli studi clinici, alcuni dei quali verranno presi in considerazione più avanti, ma quello di riferimento è il Decreto Legislativo 24 giugno 2003 n.211 (81).

Per **studio osservazionale** si intende uno studio nel quale i medicinali sono prescritti secondo le indicazioni dell'autorizzazione all'immissione in commercio. L'assegnazione del paziente ad una determinata strategia terapeutica rientra nella normale pratica clinica e la decisione di prescrivere il medicinale è del tutto indipendente da quella di includere il paziente nello studio. Ai pazienti che partecipano ad uno studio osservazionale non si applica nessuna procedura supplementare di diagnosi e cura diverse da quelle che si applicano per pratica clinica. Gli studi osservazionali sono regolamentati in Italia dalla Determinazione AIFA 20 marzo 2008 (84).

Un'ulteriore suddivisione degli studi può essere fatta in base al promotore. Il promotore è una persona, società, istituzione o organismo che si assume la responsabilità di avviare, gestire e/o finanziare una sperimentazione clinica (81). Se il promotore è un'industria, una società farmaceutica o una struttura privata a fini di lucro si parla di **studio profit**, se invece è una struttura non a fini di lucro (come ASL, Azienda Ospedaliera, IRCCS pubblico o privato, Associazione Scientifica, Università, Enti di Ricerca, Fondazioni) si parla di **studio no-profit**. La differenza fondamentale tra queste due tipologie è che gli studi no-profit non hanno fini registrativi, sono mossi generalmente da quesiti scientifici derivanti da metanalisi o da dati di letteratura e non da esigenze di mercato e hanno come obiettivo il miglioramento della pratica clinica o la messa a punto di strategie terapeutiche. Gli studi no-profit sono regolamentati in Italia dal Decreto Ministeriale 17 dicembre 2004 (83).

## 1.1 La ricerca pre-clinica e traslazionale

Prima di poter passare alla sperimentazione clinica è necessario avere solidi risultati derivanti dagli studi di pre-clinica. La sperimentazione pre-clinica ha lo scopo di:

- ✓ definire il profilo di attività del farmaco,
- ✓ definire il profilo di efficacia del farmaco e valutarne l'eventuale tossicità per l'organismo,
- ✓ studiare la farmacodinamica del farmaco e cominciare a studiarne la formulazione più adatta per la somministrazione.

La ricerca pre-clinica utilizza i cosiddetti modelli sperimentali della malattia. Si tratta di sistemi biologici in cui vengono ricreate sperimentalmente le stesse caratteristiche della patologia: si possono usare colture di cellule fatte crescere in laboratorio (modelli in vitro) oppure animali da laboratorio (modelli in vivo). I modelli animali possono essere distinti in modelli indotti o spontanei. Nei modelli animali indotti, una malattia o un processo patologico sono indotti sperimentalmente per ottenere una condizione che somigli a quella che si verifica nella specie bersaglio. Per modelli animali spontanei si intendono quelli che manifestano spontaneamente

malattie simili all'uomo o alla specie di interesse. Le autorità regolatorie indicano che gli studi di pre-clinica devono essere effettuati almeno in un roditore (di solito il ratto) e in un non-roditore (solitamente il cane o la scimmia e in alcuni specifici studi il coniglio). Gli studi sono inizialmente a dose singola e successivamente si passa a quelli a dose ripetuta. Ovviamente, tutti gli esperimenti di pre-clinica sono sottoposti a stretto controllo da parte delle autorità competenti e i risultati devono essere ottenuti seguendo regole ben precise, definite Good Laboratory Practices, per poter poi essere utilizzati come base per studi sugli uomini. Inoltre, analogamente a quanto accade per l'uomo, anche la sperimentazione sugli animali deve essere approvata. I laboratori di ricerca pre-clinica si avvalgono di un comitato in cui sono presenti professionisti con competenze nell'area della veterinaria che hanno il compito di valutare in maniera indipendente, di monitorare e di indirizzare le proposte dei diversi gruppi di ricerca.

Il trasferimento dei risultati ottenuti nella ricerca pre-clinica alla clinica è compito della ricerca traslazionale.

## **2. Modalità di richiesta di autorizzazione per la conduzione di uno studio clinico**

I requisiti principali che uno studio, sia clinico che osservazionale, deve avere sono quelli di validità, di valore scientifico e di eticità. E' necessario infatti che uno studio contenga una validità e un valore scientifico senza i quali ogni considerazione etica diventa superflua. Una cattiva scienza è di per sé una scienza non etica in quanto ogni sperimentazione, anche se esente da rischi per i soggetti coinvolti, comporta comunque un dispendio di risorse economiche e umane (80). La valutazione del valore scientifico e dell'eticità di uno studio viene affidata al Comitato Etico.

Il **Comitato Etico (CE)** è un organismo indipendente, composto da personale sanitario e non, che ha la responsabilità di garantire la tutela dei diritti, della sicurezza e del benessere dei soggetti in sperimentazione e di fornire pubblica garanzia di tale tutela esprimendo un parere ad esempio sul protocollo di sperimentazione, sull'idoneità degli sperimentatori, sull'adeguatezza delle strutture e sui metodi e documenti che verranno impiegati per informare i soggetti e per ottenere il consenso informato (81). Le Good Clinical Practice (GCP) fissano la costituzione del CE al fine di garantire una adeguata valutazione scientifica, metodologica ed etica.

Nel DL 211 (81) si afferma che il promotore può avviare una sperimentazione solo dopo aver ottenuto parere favorevole del CE e qualora le autorità competenti non abbiano comunicato obiezioni motivate. Il parere del CE della struttura in cui opera lo sperimentatore coordinatore è definito 'parere unico'. I comitati etici delle strutture degli altri centri (detti centri collaboratori)

possono accettare o rifiutare *in toto* il parere del CE coordinatore con la possibilità di richiedere delle modifiche al consenso informato.

L'**Autorità Competente (AC)** per gli studi di fase I è l'Istituto Superiore di Sanità (ISS), per gli studi che prevedono l'uso di farmaci per terapia genica, terapia cellulare somatica o medicinali contenenti OGM è L'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA), per tutti gli altri studi è il Direttore Generale o il responsabile legale della struttura in cui si conduce la ricerca. La modalità di richiesta di autorizzazione all'AC per la conduzione di uno studio clinico e la richiesta di parere al CE è descritta nel Decreto Legislativo 21 dicembre 2007 (82). Questa modalità prevede l'inserimento dei dati relativi allo studio clinico nell'Osservatorio Nazionale sulla Sperimentazione Clinica dei Medicinali (OsSC).

A metà degli anni '90 la comunità scientifica ha aperto un dibattito sulla necessità di disporre di archivi informatizzati sulle sperimentazioni cliniche (80). Per rispondere a questa esigenza in Italia è stato istituito l'OsSC, un registro in cui vengono inseriti per via telematica tutti gli studi clinici condotti nel nostro paese al fine di garantirne la sorveglianza. L'OsSC raccoglie ed elabora i dati delle sperimentazioni e ne divulga i resoconti attraverso pubblicazioni periodiche. Si prefigge i seguenti obiettivi:

- ✓ l'armonizzazione delle procedure e delle documentazioni necessarie ad iniziare, emendare, concludere e riportare i risultati delle sperimentazioni;
- ✓ la pubblicazione di rapporti annuali basati su dati nazionali e regionali rivolti agli operatori del settore e al pubblico in generale;
- ✓ la realizzazione, d'intesa con le Regioni e le Province autonome, di iniziative di formazione.

Gli utenti abilitati (Promotori, CRO, Comitati Etici, ISS, AIFA) accedono all'OsSC tramite le credenziali rilasciate dall'Ufficio Ricerca e Sperimentazione clinica dell'AIFA al fine di:

- ✓ preparare le domande per richiedere il parere del Comitato Etico e l'autorizzazione dell'Autorità Competente;
- ✓ comunicare le decisioni del Comitato Etico / Autorità Competente;
- ✓ notificare l'avvio, la conclusione e la pubblicazione dei risultati della sperimentazione.

L'OsSC consente inoltre l'invio dei dati che vengono in esso inseriti ad una banca dati europea sulle sperimentazioni cliniche (Eudract) che ha lo scopo di raccogliere tutte le informazioni sulle ricerche cliniche condotte nei paesi membri.

La modalità per richiedere al CE l'autorizzazione a condurre uno studio osservazionale è descritta nella Determinazione AIFA 20 marzo 2008 (84). Anche per gli studi osservazionali è stato istituito dall'AIFA un registro: 'registro studi osservazionali' (rso), che è collegato all'OsSC.

### **3. Good Clinical Practice (GCP): una garanzia di validità ed eticità**

Se il valore scientifico è un parametro che viene lasciato alle competenze scientifiche di chi progetta uno studio e viene poi avvallato dal CE, ci sono regole ben precise per garantire invece la validità e l'eticità di una sperimentazione. Tali regole sono definite nelle Good Clinical Practice (GCP). Le GCP sono uno standard internazionale di etica e qualità scientifica per progettare, condurre, registrare e relazionare gli studi clinici che coinvolgono soggetti umani. L'aderenza a questi standard garantisce pubblicamente non solo la tutela dei diritti, della sicurezza e del benessere dei soggetti che partecipano allo studio, in conformità con i principi stabiliti dalla dichiarazione di Helsinki, ma anche l'attendibilità dei dati relativi allo studio clinico. (1)

Il DM 15 luglio 1997 (1) rappresenta il recepimento italiano delle GCP e i principi fondamentali in esso descritti sono riassunti di seguito:

- ✓ uno studio può iniziare solo se i benefici previsti giustificano i rischi
- ✓ i diritti, la sicurezza e il benessere dei soggetti deve prevalere sugli interessi della scienza e della società
- ✓ le informazioni non cliniche e cliniche relative ad un prodotto in sperimentazione devono essere adeguate a supportare lo studio
- ✓ lo studio deve essere condotto in conformità al protocollo approvato dal CE
- ✓ le cure mediche e le decisioni di natura medica sono sempre sotto la responsabilità di un medico qualificato
- ✓ il team dello studio deve possedere preparazione, istruzione ed esperienza necessarie ad espletare le mansioni assegnate
- ✓ un consenso informato deve essere ottenuto liberamente prima della partecipazione del soggetto allo studio
- ✓ ogni informazione relativa allo studio clinico deve essere registrata, trattata e conservata in modo tale da consentire un accurato resoconto, interpretazione e verifica
- ✓ deve essere garantita la riservatezza dei documenti che potrebbero identificare i soggetti
- ✓ i prodotti in sperimentazione devono essere preparati, gestiti e conservati nel rispetto delle Norme di Buona Fabbricazione (GMP)

Le GCP individuano le figure chiave di una sperimentazione clinica (CE, sperimentatore, promotore) e ne elencano le responsabilità; danno inoltre una definizione e descrivono i contenuti di

minima che documenti, quali protocollo e foglio informativo, devono avere. Si entrerà maggiormente nel dettaglio di questi aspetti nel Capitolo 4.

## **4. La sperimentazione clinica sui minori**

Se tutte le sperimentazioni cliniche devono avere requisiti di validità, valore scientifico ed eticità, una attenzione ancora maggiore al rispetto di questi principi deve essere posta per quelle sperimentazioni che coinvolgono soggetti considerati vulnerabili: minori, adulti incapaci, anziani e donne in età fertile. E' evidente che la sperimentazione clinica è necessaria anche su queste categorie dato che è necessario raccogliere informazioni sull'effetto dei farmaci che verranno assunti anche da loro una volta in commercio. A tutela di questi soggetti, il DL 211 (81) descrive le condizioni per intraprendere la sperimentazione su minori e su adulti incapaci di dare il proprio consenso. Lo stesso DL 211 prevede inoltre che, affinché un minore partecipi ad una sperimentazione clinica, deve essere ottenuto il consenso da entrambi i genitori (o dal legale rappresentante) e tale consenso deve rispecchiare la volontà del minore. Se questo è in grado di farsi un'opinione propria, la sperimentazione non può essere intrapresa contro la sua volontà. Rimane inteso che il consenso può essere ritirato in qualsiasi momento. Il minore deve ricevere da personale esperto a trattare con i minori informazioni commisurate alla sua capacità di comprensione ed eventualmente deve ricevere un modulo di informazione che gli risulti comprensibile. Le sperimentazioni devono essere condotte in modo da ridurre al minimo il dolore, il disagio e ogni altro rischio. Questa condizione deve essere specificata nel protocollo e continuamente monitorata. Il minore deve trarre beneficio diretto dallo studio clinico e la sperimentazione deve riguardare una patologia di cui soffre o essere di natura tale da poter essere intrapreso solo su minori (patologie esclusivamente pediatriche). Il CE, nella valutazione di uno studio su minori, deve avvalersi della consulenza di un pediatra se non già presente al suo interno.

## **5. La sperimentazione clinica in Italia**

Un'indagine svolta dall'Istituto Mario Negri in collaborazione col Movimento dei Cittadini, indica che il 69% degli intervistati ha sentito parlare di ricerca clinica. In Italia ogni anno circa 100.000 persone partecipano a sperimentazioni di farmaci o di procedure cliniche. Solo il 45% degli intervistati è a conoscenza delle garanzie che la legge prevede, ovvero che uno studio deve essere

valutato da un CE. Solo il 29% delle persone intervistate si dichiara disponibile a far sperimentare su di sé un nuovo farmaco in qualità di ‘volontario sano’ e il 49% in qualità di ‘paziente’ (80).

Dati recenti sulla ricerca clinica sono stati riportati nel 10° rapporto nazionale dell’AIFA sulla sperimentazione clinica dei medicinali in Italia (85). Nel 2010 in Italia sono stati effettuati 660 studi clinici (il 15,7% di tutti gli studi effettuati nell’Unione Europea) e la quota dei pazienti arruolati in Italia ha pesato per il 21,8%. L’area terapeutica maggiormente studiata è l’oncologia (30% degli studi).

Nel periodo 2006-2010 sono stati condotti nel nostro paese 3848 studi clinici (di cui 61,7% profit e 38,3% no-profit; 4,7% di fase 1, 38% di fase 2, 43,5% di fase 3, 12,7% di fase 4 e 1,2% di bioequivalenza e biodisponibilità) di questi studi 201 nell’area endocrinologia (73,1% profit e 26,9% no profit). Dei 280 studi condotti nella provincia di Verona nel medesimo periodo, 184 sono stati condotti presso l’Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata (AOUI) di Verona. Di questi studi l’AOUI di Verona è stata promotore di 15 studi no profit (ovvero l’1% di tutti gli studi no-profit condotti in Italia) collocandosi al 28° posto di 216 promotori no-profit per numero di studi sponsorizzati.

Per quanto riguarda gli studi osservazionali, nel 2010 (periodo 1 marzo-31 dicembre) sono stati condotti 116 studi. Di questi, 90 erano gli studi approvati al momento della pubblicazione dell’aggiornamento e tra questi ve ne erano 4 nell’area endocrinologia. Gli studi osservazionali condotti presso l’AOUI di Verona nello stesso periodo sono stati 2.

## 6. Il ‘clinical project management’

Il clinical project management può essere considerato come l’applicazione dei principi del project management (capitolo 2) alla sperimentazione clinica (FIGURA 4).



**FIGURA 4:** il clinical project management

I requisiti di un clinical project manager sono analoghi a quelli di un qualsiasi altro project manager (capacità di presentazione e comunicazione, capacità di organizzare e motivare gli altri, entusiasmo, spinta all’innovazione e leadership, capacità di gestire il budget dello studio e monitorare i costi, abilità strategiche e operative nel pianificare e condurre uno studio, capacità di



mediare tra le varie figure) ma si aggiungono a questi anche competenza e motivazione scientifica (2,80).

In alcuni articoli che sono stati pubblicati si sottolinea l'importanza dell'attività di monitoraggio sulla conduzione dello studio svolta da un 'coordinatore'; il coordinatore con la sua attività consente infatti di prevenire ed individuare errori, a volte gravi (es. deviazioni di protocollo, deviazioni nel consenso), e di porvi rimedio (86).

La figura del clinical project manager nella ricerca pre-clinica è molto vicina invece a quella che in letteratura è definita come 'knowledge broker' (87). Le attività del knowledge broker sono un'approfondita valutazione del contesto, l'acquisizione e la gestione della conoscenza, la traslazione, lo scambio delle conoscenze e la realizzazione di processi decisionali. Ha inoltre il compito di instaurare reti collaborative con altri gruppi di ricerca e di stabilire network professionali. Deve essere a conoscenza dei risultati più recenti ed aggiornati degli studi attraverso una costante revisione della letteratura. Deve avere formazione scientifica, esperienza di ricerca, capacità interpretative dei risultati e conoscenza delle organizzazioni sanitarie nonché capacità e predisposizione alla negoziazione e conoscenza di efficaci strategie di mediazione (87).

## **CAPITOLO 4**

### **Gli Studi seguiti in qualità di Clinical Project Manager: le attività svolte e i risultati conseguiti**

Nell'ambito del presente Dottorato di Ricerca sono stati seguiti in qualità di Clinical Project Manager 4 studi condotti presso la Sezione di Endocrinologia, Diabetologia e Metabolismo del Dipartimento di Medicina (Università degli Studi di Verona) di seguito descritti.

#### **1. Studio TOSCA**

TOSCA è un acronimo per 'Thiazolidinediones Or Sulphonylureas and Cardiovascular Accidents' ed è uno studio per valutare gli 'Effetti sull'incidenza di eventi cardiovascolari dell'aggiunta di pioglitazone o di una sulfonilurea alla metformina in pazienti con diabete mellito tipo 2 in monoterapia non adeguatamente compensati'. Si tratta di uno studio di fase IV promosso dalla Società Italiana di Diabetologia (SID) e finanziato dall'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA).

All'inizio del presente Dottorato di Ricerca lo studio era già stato valutato ed approvato dal Comitato Etico dell'Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona pertanto le attività si sono concentrate nel monitoraggio e nel coordinamento del trial durante la fase clinica.

##### **1.1 Background e razionale**

La principale causa di morte tra i pazienti diabetici è quella cardiovascolare, con un rischio 2-4 volte superiore rispetto ai non diabetici (4). Lo studio United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) ha chiaramente dimostrato che un compenso glicemico ottimale riduce gli eventi correlati al diabete (5,6). Pertanto, uno dei maggiori obiettivi del trattamento del diabete mellito tipo 2 di nuova diagnosi è il raggiungimento di una emoglobina glicosilata (HbA1c) < 7%, poiché questo parametro rappresenta il più forte predittore di complicanze croniche della malattia. Purtroppo questo obiettivo è difficilmente perseguibile a causa del progressivo deterioramento della funzione beta cellulare e dell'insulinosensibilità, tanto che dopo 3 anni dalla diagnosi solo il

50% dei pazienti raggiunge l'obiettivo glicemico con la monoterapia, percentuale che si riduce al 25% dopo 9 anni (7).

L'approccio terapeutico comunemente utilizzato procede per gradini: si comincia con l'intervento sullo stile di vita e, quando questo è insufficiente, si inizia la terapia farmacologica che viene progressivamente intensificata attraverso la combinazione di differenti classi di farmaci ipoglicemizzanti. La metformina è raccomandata come farmaco di prima scelta per la terapia del diabete di tipo 2 (8,9). Recentemente è stata introdotta una nuova classe di farmaci, i tiazolidinedioni (TZD), che agiscono migliorando la sensibilità insulinica a livello epatico e dei tessuti periferici attraverso un'azione diretta sul tessuto adiposo e la regolazione di diverse adipochine (10). Migliorando l'insulino-sensibilità, i TZD producono una significativa riduzione dei livelli ematici di glucosio, sia in monoterapia che in combinazione con la metformina o con una sulfonilurea (SU) (10) e migliorano diversi fattori di rischio cardiovascolare associati all'insulino-resistenza (10-12). Inoltre, i TZD esercitano un effetto cito-protettivo sulle cellule beta-pancreatiche evidenziato sia in animali da esperimento (13) che in studi clinici (14). La disponibilità di questi nuovi farmaci ha ampliato le opzioni terapeutiche nel diabete mellito tipo 2 ma, contemporaneamente, ha generato incertezza su quali siano i farmaci più appropriati da utilizzare in associazione alla metformina. La carenza di solide evidenze scientifiche al riguardo è stata sottolineata in un documento elaborato dall'American Diabetes Association e dall'European Association for the Study of Diabetes (8) che stabilisce che in caso di fallimento della monoterapia con metformina è possibile associare indifferentemente sia una SU che un TZD in quanto mancano dati che dimostrino la superiorità di una combinazione rispetto all'altra. Sarebbe quindi quanto mai utile poter disporre di un confronto diretto tra queste due strategie terapeutiche in considerazione del fatto che le due classi di farmaci differiscono profondamente per meccanismo d'azione, effetti collaterali e costi. Allo stato attuale non vi sono informazioni sufficienti per operare una scelta terapeutica basata sull'evidenza, anche in considerazione del fatto che mancano dati sugli outcomes cardiovascolari che costituiscono un parametro di importanza cruciale nella valutazione globale dell'efficacia di questi farmaci. Vi è quindi la necessità di trials clinici su larga scala che confrontino l'efficacia dell'associazione metformina + SU vs metformina + TZD sugli outcomes cardiovascolari.

## **1.2 Obiettivi, popolazione e durata dello studio**

L'obiettivo principale dello studio TOSCA è di valutare se in pazienti con diabete mellito di tipo 2 non adeguatamente compensati con la massima dose tollerata di metformina, l'aggiunta di

pioglitazone rispetto all'aggiunta di una sulfonilurea riduce l'incidenza di eventi cardiovascolari. I due trattamenti vengono confrontati anche in termini di efficacia sul compenso glicemico, sui maggiori fattori di rischio cardiovascolare, sicurezza, tollerabilità e costi.

Tra le SU in commercio, la scelta tra glibenclamide, gliclazide e glimepiride è lasciata allo sperimentatore, che seguirà la pratica clinica locale. I TZD in commercio al momento della pianificazione dello studio erano il rosiglitazone ed il pioglitazone. Si è deciso di usare solo il pioglitazone in quanto questo presenta effetti più favorevoli sui fattori di rischio cardiovascolare rispetto al rosiglitazone, come indicato dai risultati di alcune metanalisi di studi condotti con questi farmaci (15,16,17).

Il progetto iniziale prevedeva il coinvolgimento di 19 Unità Operative (in collaborazione con una rete di centri e strutture ambulatoriali) che avrebbero dovuto arruolare in 1 anno 5172 pazienti affetti da diabete mellito di tipo 2, tra i 50 e i 75 anni di età, di entrambi i sessi, con un indice di massa corporea (BMI) compreso tra 20 e 40 Kg/m<sup>2</sup> e un valore di HbA1c >7.0% e <9.0%, in trattamento stabile da almeno 3 mesi con metformina in monoterapia.

Dopo aver dato il consenso informato, i pazienti entrano in un periodo di run-in di 8 settimane durante il quale assumono la sola metformina aggiustata fino al massimo dosaggio consentito o tollerato e ricevono indicazioni sullo stile di vita (dieta e attività fisica) nonché un glucometro per la misurazione domiciliare della glicemia. Al termine del periodo di run-in l'eleggibilità viene nuovamente verificata e i pazienti sono randomizzati ad uno dei due bracci di trattamento:

- Metformina (dose massima tollerata) + sulfonilurea
- Metformina (dose massima tollerata) + pioglitazone.

I pazienti sono sottoposti a visite di follow-up dopo 1, 3 e 6 mesi dalla fine del run-in e quindi ogni 6 mesi per tutta la durata dello studio. Sono previsti inoltre dei contatti telefonici bimestrali per la rilevazione di eventi avversi, l'acquisizione dei dati di compenso glicemico e l'eventuale modifica del dosaggio dei farmaci. Al basale ed ogni 6 mesi vengono rilevati i seguenti parametri: segni vitali, peso, circonferenza vita, glicemia, eventi avversi, profili glicemico domiciliare, aderenza al trattamento, modifiche nell'uso o nel dosaggio dei farmaci, storia di ospedalizzazione per eventi cardiovascolari, episodi di claudicatio intermittens o angina; vengono inoltre monitorate le transaminasi (ALT, AST) ed HbA1c. Al basale ed ogni 12 mesi vengono misurati lipidi plasmatici (colesterolo totale, colesterolo HDL e trigliceridi), microalbuminuria e proteina C reattiva e viene effettuato un ECG a riposo.

I pazienti vengono seguiti per almeno 4 anni, ma dato che l'analisi di efficacia è eventi-guidata, lo studio si interromperà solo quando il numero prefissato di eventi cardiovascolari si sarà verificato. Tale numero, al fine di consentire un'analisi di efficacia, è stato fissato a 652 eventi.

### 1.3 Criticità e stato dell'arte

Lo studio Tosca è stato approvato dal Comitato Etico dell'Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona ed autorizzato dal Direttore Generale con delibera del 07/10/2008. L'U.O.C. di Endocrinologia e Malattie Metaboliche ha ottenuto il primo consenso in data 16/01/2009.

Il contributo dato dal centro di Verona è sempre stato rilevante rispetto al numero medio di pazienti arruolati in Italia. L'aggiornamento inviato dal promotore nel novembre 2009 riportava infatti che il centro di Verona aveva effettuato lo screening di 127 pazienti e ne aveva randomizzati 61, secondo solo al centro di Napoli – Università degli Studi di Napoli Federico II (centro coordinatore) in un quadro complessivo di 36 centri attivi, 1019 screening effettuati e 447 pazienti randomizzati. Anche nell'aggiornamento di ottobre 2010 il centro di Verona risultava secondo dopo Napoli per numero di screening (218) e pazienti randomizzati (111). Nello stesso aggiornamento si segnalavano complessivamente 46 centri attivi, 1970 screening effettuati e 1027 pazienti randomizzati. Come si può capire dall'aggiornamento nell'ottobre del 2010, nonostante il lavoro svolto da tutti i centri, il target da raggiungere era ancora ben lontano, motivo per cui lo Steering Committee (comitato di coordinamento) si radunò e decise di modificare il protocollo per accelerare l'arruolamento. Così a fine ottobre 2010 venne sottomesso a tutti i Comitati Etici dei centri partecipanti un emendamento che prevedeva le seguenti modifiche:

1. allargare i range di HbA1c per l'inclusione nello studio, includendo i soggetti con  $HbA1c \geq 7\%$  e  $\leq 9\%$  ( $HbA1c > 7\%$  e  $< 9\%$  nella versione 1 del protocollo);
2. allargare i range di BMI per l'inclusione nello studio, includendo i soggetti con BMI compreso tra 20 e 45 kg/m<sup>2</sup> (BMI 20-40 Kg/m<sup>2</sup> nella versione 1 del protocollo);
3. modificare i criteri di inclusione, inserendo i soggetti in trattamento stabile da almeno 2 mesi con metformina in monoterapia al dosaggio di 2 g/die (la versione 1 del protocollo prevedeva soggetti in trattamento stabile da almeno 3 mesi con metformina in monoterapia);
4. modificare i criteri di esclusione, aggiungendo tra le voci i pazienti in trattamento con TZD nei precedenti 6 mesi;
5. modificare il limite di creatinina, portandolo a 1.5 mg/dl (1.3 mg/dl nella versione 1 del protocollo);
6. abolire il periodo di run-in di 8 settimane precedente alla randomizzazione dei partecipanti;
7. inserire lo scompenso cardiaco tra gli end-point secondari dello studio.

Si decise inoltre di coinvolgere nuovi centri e di estendere il periodo di arruolamento fino a dicembre 2011.

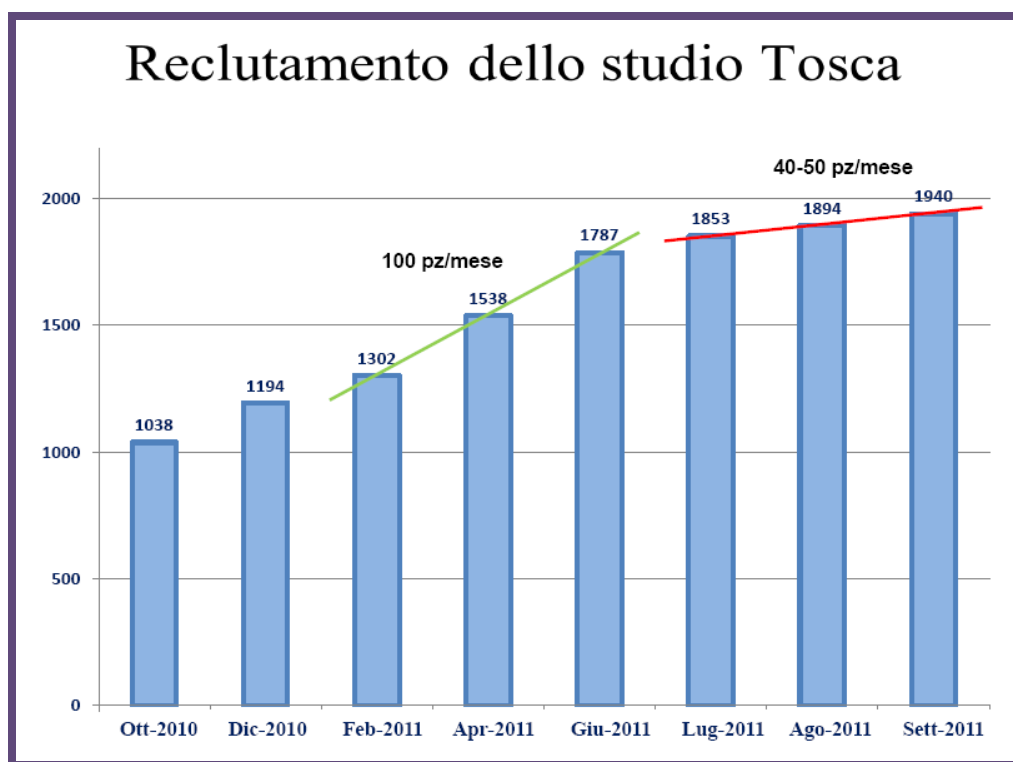
Nonostante le modifiche introdotte l'arruolamento nell'ultimo anno non ha avuto l'accelerazione desiderata: l'aggiornamento fornito dal promotore nell'ottobre 2011 riportava complessivamente 57 centri attivi, 3324 screening effettuati e 2000 pazienti randomizzati. Il contributo dato in questa data dal centro di Verona era di 329 screening e 181 pazienti randomizzati.

A determinare un ulteriore rallentamento dell'arruolamento (FIGURA 4) ha contribuito una nota uscita il 17 dicembre 2010 con la quale la Food and Drug Administration (FDA) statunitense comunicava i risultati di un interim analisi a 5 anni di uno studio osservazionale di 10 anni volto a valutare il rischio di insorgenza di cancro alla vescica nei pazienti trattati con pioglitazone. Tale studio metteva in risalto un aumentato rischio di cancro alla vescica nei pazienti con una esposizione al farmaco per un lungo periodo. Il 15 giugno 2011 l'FDA ha pubblicato un aggiornamento alla luce di nuovi dati emersi da uno studio epidemiologico condotto in Francia che evidenziava una relazione tra uso di pioglitazone e aumentato rischio di cancro alla vescica. Alla luce di questi dati la Francia ha ritirato il pioglitazone e la Germania ha proibito l'uso del farmaco in nuovi pazienti. La raccomandazione dell'FDA è stata quella di non trattare con pioglitazone i pazienti con cancro alla vescica in fase attiva o con storia di cancro alla vescica. In linea con le raccomandazioni dell'FDA anche l'European Medicines Agency (EMA) il 21 luglio 2011 ha pubblicato un alert nel quale raccomandava di evitare l'uso di pioglitazone in pazienti con cancro alla vescica o con storia di cancro alla vescica o con ematuria macroscopica e in ogni caso di valutare sempre i fattori di rischio. Con un comunicato stampa del 21 ottobre 2011 l'EMA ha infine dichiarato di aver rilevato un lieve aumento del rischio di cancro alla vescica correlato con l'uso di pioglitazone ma ha concluso che tale farmaco deve rimanere disponibile come alternativa terapeutica di seconda e terza linea per alcuni pazienti con diabete di tipo 2 qualora altri trattamenti non si fossero dimostrati adeguati.

Alla luce di queste segnalazioni l'8 novembre 2011 si è riunito il Data Safety Monitoring Board dello studio TOSCA che ha rivisto i dati dello studio per braccio di trattamento raccolti fino a quel momento ed ha concluso che il beneficio derivante dall'uso di pioglitazone sugli eventi cardiovascolari e sugli altri tumori eccede largamente il potenziale svantaggio sul rischio di tumori vescicali. Il rapporto rischio-beneficio del pioglitazone resta pertanto ampiamente favorevole. Le raccomandazioni AIFA ed EMA verranno recepite mediante un emendamento al protocollo col quale verranno modificati i criteri di eleggibilità, escludendo i pazienti con carcinoma alla vescica in fase attiva, pregressa storia di carcinoma alla vescica, ematuria macroscopica di natura non accertata.

Recentemente è stata inoltre rivalutata la numerosità del campione abbassando il numero di pazienti da arruolare a 3500 e si è ulteriormente esteso il periodo di arruolamento dello studio fino

ad ottobre 2012. Rispetto quindi all'andamento del reclutamento nell'ultimo anno (FIGURA 5), per raggiungere il target la media di pazienti arruolati al mese dovrà aumentare fino a 120 pazienti circa. Considerando che verranno aperti nei prossimi mesi 6 nuovi centri l'obiettivo dovrebbe essere raggiunto.



**FIGURA 5:** andamento del reclutamento dello studio Tosca nell'anno 2011 (Riunione degli Investigatori, Riccione 09 ottobre 2011)

#### 1.4 Attività svolte in qualità di clinical project manager per lo studio TOSCA

La principale attività svolta nell'ambito di 'Tosca' è stata la supervisione della conduzione dello studio per assicurare che fossero adempite quelle definite dalle GCP come 'responsabilità dello sperimentatore'. Secondo le Good Clinical Practice (1) lo sperimentatore deve infatti:

- conoscere le GCP ed operare in accordo ad esse e alla normativa vigente
- consentire il monitoraggio da parte dello sponsor ed ispezioni da parte delle autorità regolatorie
- avere tempo e staff sufficienti per la conduzione dello studio
- tenere un elenco aggiornato delle persone coinvolte nello studio e delle attività ad esse delegate; ognuna di queste persone deve aver ricevuto un adeguato training sullo studio
- dimostrare di poter arruolare il numero di soggetti concordato nel tempo a disposizione

- mantenere sotto la sua responsabilità e degli altri medici dello staff tutte le decisioni di natura medica
- garantire al soggetto assistenza medica in caso di eventi avversi
- informare il medico di famiglia del soggetto che partecipa allo studio, se questo dà il consenso
- stipulare un contratto col promotore
- raccogliere il consenso informato (seguendo precise modalità sempre descritte dalle GCP) del soggetto che intende partecipare allo studio
- ottenere parere favorevole del CE prima di intraprendere lo studio
- condurre lo studio in conformità al protocollo approvato dal CE senza attuare deviazioni o modifiche tranne nel caso di rischio immediato per il soggetto. Tale deviazione deve però essere comunicata al CE non appena possibile
- fornire al CE eventuali aggiornamenti dell'Investigator Brochure e di tutti gli altri documenti che vengono modificati nel corso dello studio
- aggiornare annualmente il CE sull'avanzamento dello studio
- informare immediatamente il CE in merito a cambiamenti che aumentino i rischi per i soggetti
- comunicare gli eventi avversi al promotore e al CE secondo le modalità descritte più avanti
- conservare tutta la documentazione sul prodotto in studio e quella relativa all'assunzione del prodotto stesso da parte dei soggetti
- garantire l'adeguata conservazione del prodotto in studio ed il suo utilizzo in conformità al protocollo
- istruire il soggetto sulla corretta modalità di assunzione del farmaco
- effettuare l'apertura del cieco, se necessaria, in conformità a quanto descritto nel protocollo
- assicurare la precisione, la completezza e la leggibilità dei dati riportati nella scheda raccolta dati (CRF); tali dati devono concordare con quelli riportati nei documenti originali (source documents)
- informare immediatamente i soggetti nel caso di interruzione prematura dello studio e seguirli per un appropriato follow-up
- appurare le ragioni per un eventuale ritiro di un soggetto, sempre comunque rispettandone i diritti
- fornire al CE un riassunto dell'esito alla conclusione dello studio
- conservare i documenti essenziali per 7 anni dalla conclusione dello studio

Nel dettaglio le attività svolte per questo studio sono state le seguenti:

- ❖ Verifica, attraverso dei controlli a campione, che le procedure attuate dal centro fossero conformi a quanto previsto dal protocollo e la rispondenza tra quanto riportato in cartella clinica e quanto scritto nelle CRF assicurandone precisione, completezza e leggibilità.



❖ Preparazione dei documenti per la richiesta di emendamento al CE e verifica che le modifiche introdotte con l'emendamento non fossero adottate prima della loro approvazione.

La modalità per la richiesta di un emendamento sostanziale è analoga a quella per la richiesta di autorizzazione alla conduzione di uno studio e consiste nell'inserimento in OsSC di tutti i documenti emendati. Il modello stampato dall'OsSC assieme alla copia cartacea dei documenti emendati, ad una descrizione delle motivazioni che hanno portato all'emendamento e all'aggiornamento sui pazienti in studio presso il centro al momento della richiesta, deve quindi essere fornita al CE. Solo dopo che il CE ha approvato l'emendamento e l'AC lo ha autorizzato, l'emendamento può essere attuato.

❖ Organizzazione di riunioni periodiche per discutere con lo staff l'andamento dello studio e raccogliere eventuali criticità per alcune delle quali si è poi contattato e coinvolto il promotore. Per altre criticità si è invece coinvolto il laboratorio centralizzato (ad esempio per alcuni problemi emersi con l'invio degli ECG), il data management (per problemi correlati con le CRF) e altri dipartimenti dell'Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona, come ad esempio l'Ingegneria Clinica, per l'installazione di software necessari per la conduzione dello studio.

❖ Aggiornamento dell'elenco delle persone coinvolte nello studio e verifica che le deleghe ad esse assegnate rispecchiassero realmente le attività svolte.

❖ Training per garantire che tutto il personale coinvolto nello studio avesse una formazione adeguata; questi training si sono focalizzati soprattutto sul protocollo e sulle GCP con particolare attenzione alla modalità di raccolta del consenso informato. Tale modalità è descritta dalle GCP (1) e può essere così riassunta:

- lo sperimentatore deve informare con completezza il soggetto di tutti gli aspetti dello studio
- né lo sperimentatore né lo staff clinico devono esercitare alcuna coercizione o influenza sul soggetto per indurlo a partecipare allo studio
- il linguaggio del foglio informativo e del modulo di consenso informato deve essere semplice, pratico e comprensibile
- prima che possa essere ottenuto il consenso dal soggetto, lo sperimentatore deve lasciare tutto il tempo necessario per eventuali domande e chiarimenti
- il modulo di consenso informato deve essere firmato e datato personalmente dal soggetto e dallo sperimentatore che ha condotto la discussione. Al soggetto deve essere data copia datata e firmata del modulo.

❖ Verifica, mediante dei controlli a campione, dei fogli informativi e dei moduli di consenso al fine di verificare che i pazienti avessero firmato e datato di proprio pugno e di controllare che la versione utilizzata fosse quella approvata dal CE.

❖ Segnalazione dei Serious Advers Event (SAE) secondo le modalità sotto descritte e organizzazione di training per lo staff dello studio relativi a questo argomento. Si definiscono :

- Adverse Event (AE): qualsiasi episodio sfavorevole di natura medica che si verifichi in un soggetto partecipante ad una sperimentazione. L'evento non deve avere necessariamente una relazione causale con il trattamento;
- Serious Adverse Event (SAE): qualsiasi manifestazione clinica sfavorevole che causi decesso, pericolo di vita, ospedalizzazione o prolungamento di ospedalizzazione, invalidità o incapacità persistente, difetti alla nascita o anomalie congenite oppure che sia grave sotto il profilo clinico;
- Suspected Unexpected Serious Adverse Reaction (SUSAR): qualsiasi evento avverso serio, inatteso e correlato al farmaco.

Come descritto dal DL 211 (81) lo sperimentatore ha l'obbligo di tenere sotto controllo e di documentare nella CRF ogni evento avverso che si manifesti nel paziente arruolato nello studio clinico. In particolare ha l'obbligo:

- nel caso di SAE di segnalarlo alla farmacovigilanza del promotore entro 24 ore da quando ne viene a conoscenza; in caso di decesso deve essere data comunicazione immediata al CE e al promotore.

Nel caso in cui lo sperimentatore sia anche il promotore deve assumersi tutti gli obblighi di questo e cioè:

- in caso di SUSAR fatali o che mettono in pericolo di vita, deve segnalarle all'AIFA e al CE entro 7 giorni di calendario da quando ne viene a conoscenza; le altre SUSAR devono essere comunicate entro 15 giorni
- deve segnalare al titolare dell'autorizzazione all'immissione in commercio tutti gli AE, SAE e SUSAR
- deve informare gli altri sperimentatori
- deve tenere un registro degli AE e SAE che può essere richiesto dall'AIFA
- una volta all'anno deve fornire al CE una relazione sulla sicurezza (annual safety report).

❖ Revisione dei documenti riportanti informazioni sensibili relativi ai soggetti al fine di verificare che le norme sulla riservatezza fossero rispettate.

❖ Aggiornamenti annuali al CE con le informazioni riguardanti l'arruolamento e con le valutazioni relative alla sicurezza.

❖ Raccolta ed archiviazione dei documenti essenziali dello studio che sono poi stati oggetto di revisione da parte dal monitor designato dal promotore; collaborazione col monitor durante le visite di monitoraggio. Si definiscono documenti essenziali le CRF (documento su supporto cartaceo,

ottico o elettronico progettato per registrare tutte le informazioni richieste dal protocollo), i source documents e tutta la documentazione relativa alla conduzione dello studio. I documenti essenziali servono per dimostrare la conformità dell'operato dello sperimentatore (e del promotore per la sua parte) alle GCP e permettono una valutazione di come è stato condotto lo studio e della qualità dei dati ottenuti (1). Questa documentazione può essere rivista da un auditor e dalle autorità regolatorie al fine di verificare la validità dello studio. Per questo è necessario mantenere un archivio ordinato dei documenti essenziali fin dall'inizio dello studio. L'archivio deve essere un luogo sicuro e chiuso a chiave. I documenti essenziali vanno conservati dallo sperimentatore per 7 anni dalla conclusione dello studio. Le GCP riportano una lista minima dei documenti essenziali.

La mancanza di criticità di rilievo e di deviazioni rilevate dal monitor durante le visite di monitoraggio costituiscono una misura dell'efficacia dell'attività di supervisione svolta per questo studio.

## **2. 'Meccanismi candidati di aterogenesi durante il periodo post-prandiale nel bambino/adolescente obeso.'**

'Meccanismi candidati di aterogenesi durante il periodo post-prandiale nel bambino / adolescente obeso' è uno studio interventistico non farmacologico no-profit che vede come promotore la sezione di Endocrinologia, Diabetologia e Metabolismo del Dipartimento di Medicina dell'Università di Verona e svolto in collaborazione con l'U.O.C. di Diabetologia, Nutrizione Clinica e Obesità in età Pediatrica dell'ULSS 20.

Gli obiettivi delle attività svolte per questo studio sono stati la stesura del protocollo e la sottomissione dello studio al Comitato Etico per l'approvazione.

### **2.1 Background e razionale**

Negli ultimi due decenni la prevalenza dell'obesità nel bambino/adolescente è cresciuta velocemente (18) e a questa è seguito un incremento del diabete di tipo 2 anche in età evolutiva (19) ed un aumento del rischio di sviluppo di aterosclerosi (20). Per molti aspetti, ma non per tutti, l'obesità in età evolutiva ha importanti somiglianze con quella dell'adulto. Più grave è l'obesità e maggiore è l'associazione con le sue più comuni complicanze, quali insulino-resistenza, elevata pressione arteriosa e dislipidemia, nonché la loro aggregazione nella sindrome metabolica (21). Il

grasso intra-addominale si accompagna a più elevata pressione arteriosa, diminuzione del colesterolo HDL e aumento dei trigliceridi (22) e il tessuto adiposo, aumentato di volume, è infiltrato da macrofagi che formano microgranulomi (23). I livelli circolanti di adipocitochine, quali interleuchina-6 (IL-6) e TNF-alfa, sono aumentati (21), in parallelo si osserva un declino di adiponectina e presumibilmente dei suoi effetti favorevoli sul metabolismo (23,24). La presenza di "micro-infiammazione" è anche confermata da aumentati livelli di proteina C reattiva (CRP) e altre proteine di fase acuta (21). Nel bambino obeso, il fattore più strettamente associato a infiammazione e insulino-resistenza sembra essere la dimensione dell'adipocita (25) e questo dato è in accordo con l'ipotesi del 'overflow' adipocitario (26,27). Tutti questi indizi indicano meccanismi patogenetici coinvolti nell'attivazione del sistema immune innato e dell'infiammazione. A causa di incroci molecolari fra le vie dell'infiammazione e quelle del segnale insulinico (28,29), si pensa che quest'attivazione abbia un ruolo fondamentale nell'insulino-resistenza del bambino/adolescente obeso. A questo riguardo, bisogna ammettere che alcuni dei precedenti schemi delle relazioni fra aumento della massa adiposa e insulino-resistenza non sono stati confermati sperimentalmente nell'uomo. Il TNF-alfa e l'IL-6 sono marcatori/attivatori dei macrofagi attivati per via classica, o M1 (30). Poca attenzione è stata dedicata nell'obesità umana a quelle citochine che possono essere considerate marcatori dei macrofagi attivati per via alternativa, o M2, che producono grandi quantità di citochine anti-infiammatorie, quali l'interleuchina-10 (IL-10) (31). Così, qualche inconsistenza nei dati ottenuta nell'obesità umana potrebbe dipendere dall'aver trascurato l'equilibrio dinamico fra molecole/cellule pro- e anti-infiammatorie. Di recente, diverse pubblicazioni hanno enfatizzato il ruolo potenziale della steatosi epatica come indicatore e potenziale fattore causale di molte delle complicanze dell'obesità. Nel bambino/adolescente obeso la steatosi epatica è molto frequente (32) ed è più strettamente associata a insulino-resistenza, dislipidemia, elevata pressione arteriosa ed alti livelli di marcatori di infiammazione rispetto ad altri depositi adiposi (33).

Pertanto l'intero quadro del bambino/adolescente obeso è compatibile con una spinta accelerata verso l'aterosclerosi. Molti lavori hanno dimostrato che fenotipi intermedi dell'aterosclerosi, quali rigidità arteriosa (34), ridotta vasodilatazione endotelio-dipendente e ispessimento dell'intima-media dell'arteria carotide (35) possono essere documentati nel bambino obeso. Inoltre, almeno alcuni di essi parrebbero regredire dopo la perdita di peso (36).

Grazie al lavoro pionieristico di Zilversmit, si ritiene che la fase post-prandiale abbia un ruolo specifico nell'aterogenesi (37). Si pensa che l'iperlipemia post-prandiale sia un forte fattore di rischio per l'aterosclerosi, attraverso meccanismi coinvolgenti il metabolismo delle lipoproteine ricche in trigliceridi, l'ossidazione delle lipoproteine, l'attivazione del complemento, stress

ossidativo e infiammazione post-prandiali (38). Alcune evidenze attribuiscono anche all'iperinsulinemia di per sé la capacità di alterare la funzione endoteliale attraverso l'aumento dello stress ossidativo (40). Si noti che lo stress ossidativo può attivare vie dell'infiammazione innescate anche dall'immunità innata (41). Considerato il ruolo chiave dell'endotelio nel mantenere lo stato di salute vascolare, non è sorprendente che la (dis)funzione endoteliale sia un buon fenotipo intermedio di aterosclerosi (42) e che mostri alterazioni importanti nella fase post-prandiale (39, 43).

Nell'ultimo decennio, un gran numero di studi ha dimostrato che la rigidità arteriosa, comunemente misurata come velocità dell'onda di polso, è fortemente associata ai fattori di rischio cardiovascolare ed è un eccellente predittore indipendente di eventi vascolari (44). Esistono pochi dati pubblicati, e con risultati non concordi, circa il comportamento della rigidità arteriosa durante la fase post-prandiale nell'adulto (43, 45, 46).

Lo studio 'Meccanismi candidati di aterogenesi durante il periodo post-prandiale nel bambino/adolescente obeso' nasce con l'obiettivo di fornire dei dati riguardo il comportamento di funzione endoteliale e rigidità arteriosa in fase post-prandiale nel bambino/adolescente obeso. In questo studio si ipotizza che, nel bambino/adolescente obeso e insulino-resistente meccanismi di aterogenesi, quali iperlipidemia, stress ossidativi e micro-infiammazione, si attivino nella fase post-prandiale portando ad alterazioni della funzione vascolare. Poiché la fase post-prandiale rappresenta la grande maggioranza delle ore di veglia, il suo potrebbe portare ad individuare potenziali nuovi obiettivi di prevenzione delle complicazioni dell'obesità indicando potenziali nuovi strumenti per il trattamento dei disturbi associati all'obesità.

## **2.2 Obiettivi e disegno dello studio**

Obiettivo principale di questo studio è quello di studiare le molecole e i processi candidati per essere agenti di innesco, meccanismi patogenetici e fenotipi intermedi dell'aterosclerosi durante la fase post-prandiale nel bambino/adolescente obeso ed insulino-resistente.

In un periodo di tempo di circa 2 anni saranno esaminati 20 bambini/adolescenti di entrambi i sessi, di età compresa tra 6 e 14 anni, affetti da obesità (definita come valore di BMI al di sopra del 95% percentile per età e sesso) (47) e con indice HOMA di insulino-resistenza (HOMA-IR)  $< 1.8$  o  $> 2.5$ . I bambini/adolescenti, dopo che i genitori avranno dato il consenso per la partecipazione del figlio allo studio, saranno valutati in base ai requisiti richiesti dai criteri di inclusione e saranno divisi in base all'indice HOMA di insulino-resistenza (HOMA-IR) in 2 gruppi: gruppo A, meno insulino-resistente (HOMA-IR  $< 1.8$ ) e gruppo B, gravemente insulino-resistente (HOMA-IR  $>$

2.5). Verranno quindi misurati peso, altezza, circonferenza della vita. Al basale si rileveranno i valori pressione sistolica, diastolica e frequenza cardiaca. Verranno misurate la pulse wave velocity (PWV) carotideo-femorale, l'ispessimento intima-media (IMT) delle carotidi mediante eco-doppler ad alta risoluzione e la vasodilatazione endotelio-dipendente flusso-mediata (FMD) nell'arteria femorale comune dell'arto non dominante sempre mediante eco-doppler ad alta risoluzione. Sempre al basale si preleveranno campioni di sangue per misurare: glicemia, insulina, C-peptide, lipidi standard (colesterolo totale, trigliceridi), LDL-ossidate, adiponectina, leptina, C3, TNF-alfa, IL-6, IL-10, e CRP. Un campione separato verrà prelevato per misurare le sottofrazioni di HDL e LDL. Verrà raccolto un campione di urine per misurare 8-iso-PGF2-alfa.

Al tempo '0', i soggetti ingeriranno in un tempo non superiore ai 10 minuti un pasto iperlipidico 'prova' commisurato alla massa magra, con un rapporto grassi polinsaturi/saturi pari a 1:1. Alla fine del pasto si raccoglieranno le urine per la misura dell'8-iso-PGF2-alfa e campioni di sangue a diversi tempi per valutare glicemia, insulina e C-peptide, profilo lipidico standard, adiponectina, leptina, C3, TNF-alfa, IL-6, IL-10, CRP e le sottofrazioni di LDL/HDL. Verranno inoltre ripetute le misurazioni di PWV e FMD.

## **2.3 Attività svolte in qualità di clinical project manager per lo studio 'Meccanismi candidati di aterogenesi durante il periodo post-prandiale nel bambino/adolescente obeso.'**

Vengono di seguito riportate le attività svolte per questo studio durante il periodo di Dottorato:

❖ collaborazione col Principal Investigator e con gli altri sperimentatori nella stesura del protocollo. Il protocollo è un documento che descrive l'obiettivo, la progettazione, la metodologia, le considerazioni statistiche e l'organizzazione di uno studio, fornisce le informazioni di base e il razionale dello studio clinico (1). I contenuti che devono essere presenti nel protocollo vengono descritti dalle GCP (1) e possono essere così riassunti:

- informazioni di carattere generale;
- informazione di base sul prodotto da studiare: riassunto dei risultati degli studi di pre-clinica e di eventuali studi clinici;
- obiettivi ed endpoints dello studio;
- progettazione dello studio: descrizione del disegno e delle valutazioni previste, della popolazione da studiare, della modalità di randomizzazione, delle procedure per la rottura del cieco;
- criteri di inclusione ed esclusione, criteri per il ritiro e procedure in caso di ritiro;

- trattamento dei soggetti: descrizione della via di somministrazione, dosaggio e durata del trattamento, trattamenti permessi e non durante lo studio;
- modalità di segnalazione degli eventi avversi;
- statistica: descrizione dei metodi statistici, numero di pazienti da arruolare, calcolo della potenza dello studio, livello di significatività da utilizzare, selezione dei soggetti da includere nelle analisi;
- accesso ai dati e documenti originali, gestione dei dati e conservazione della documentazione, procedure di controllo ed assicurazione della qualità;
- aspetti etici;
- accordi finanziari ed assicurazioni;
- criteri di pubblicazione.

In particolare per questo studio si è collaborato alla stesura delle sezioni del protocollo relative a:

- Background, mediante un'analisi della letteratura relativa all'argomento oggetto dello studio. I dati presenti in letteratura sono stati inoltre utili per una collaborazione con l'Unità di Biostatistica dell'Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona al fine di individuare la dimensione del campione.
- Definizione delle procedure dello studio con particolare riguardo affinché, trattandosi di uno studio pediatrico, non fossero previste procedure in numero troppo elevato o eccessivamente invasive. Si è inoltre verificato che il protocollo prevedesse benefici diretti per il bambino/adolescente senza i quali lo studio non sarebbe stato giustificato. Tali benefici sono stati individuati nelle informazioni ricavate dalle procedure dello studio utili per individuare una terapia adeguata e nel trattamento nutrizionale specifico a cui i bambini/adolescenti che partecipano allo studio sono sottoposti, con incontri mensili con la dietista o con il medico secondo uno schema terapeutico personalizzato stabilito in base alle caratteristiche fisiche e metaboliche.
- Segnalazione degli AE e dei SAE secondo le modalità descritte al paragrafo 1.4 (cap. 4).
- Protezione dei campioni e dei dati personali. A ciascun paziente deve essere assegnato un codice alfa-numerico, con il quale vengono identificati i campioni, le schede raccolta dati e tutte le informazioni che vengono raccolte. Deve essere precisato dove i campioni vengono conservati, per quanto tempo e chi è il responsabile della custodia nonché della decodifica dei campioni.
- Requisiti etici e regolatori, con l'indicazione delle autorizzazioni necessarie per intraprendere la sperimentazione, la possibilità di ispezioni ed audit durante lo studio e la responsabilità dello sperimentatore a tal riguardo.

❖ Preparazione della documentazione per la richiesta di autorizzazione al Comitato Etico della Provincia di Verona e stretta collaborazione con lo stesso durante la fase di sottomissione. La domanda di autorizzazione è stata fatta utilizzando un apposito form fornito dal Comitato Etico ed è stata corredata dalla seguente documentazione (vengono di seguito elencati solo i documenti principali):

- riassunto dello studio che indichi tutte le principali informazioni del protocollo nonché le tempistiche previste per lo studio;
- flow-chart, ovvero schema riassuntivo dello studio riportante visite ed esami previsti con relativi tempi di esecuzione;
- scheda raccolta dati per la rilevazione dei dati necessari alla valutazione degli esiti di interesse;
- trattandosi di uno studio no profit, preventivo di spesa in cui vengono dettagliati i costi e i fondi utilizzati per la copertura delle spese;
- modulo per il medico di famiglia con un riassunto delle attività previste nello studio, la sua durata, i numeri telefonici e il nominativo dello sperimentatore di riferimento;
- foglio informativo e modulo di consenso informato. Il consenso informato è una procedura mediante la quale un soggetto accetta volontariamente di partecipare ad un particolare studio clinico, dopo essere stato informato di tutti gli aspetti dello studio pertinenti alla sua decisione (1). Il consenso informato è documentato mediante un modulo di consenso informato scritto, firmato e datato. Le GCP (1) riportano i contenuti che devono essere presenti in un foglio e nel relativo modulo di consenso informato:

- scopo dello studio;
- trattamento previsto e probabilità di assegnazione a questo;
- procedure dello studio;
- responsabilità del soggetto;
- rischi, inconvenienti e benefici ragionevolmente prevedibili;
- procedure o trattamenti alternativi eventualmente disponibili;
- indennizzo e trattamento disponibile in caso di danno correlato allo studio;
- eventuali spese previste per il soggetto;
- persone da contattare per avere informazioni o in caso di danno correlato allo studio;
- circostanze prevedibili per cui lo studio potrebbe essere interrotto;
- durata prevista per la partecipazione del soggetto.

Per questo studio si è concordato col Comitato Etico di non preparare un foglio informativo e un modulo di consenso specifici per il minore ma di prevedere comunque un campo per la



firma del minore per presa visione, se in grado di scrivere. Le firme che invece devono essere ottenute per poter far partecipare il bambino/adolescente allo studio sono quelle di entrambi i genitori o in assenza di uno di questi del tutore e queste sono state apposte in calce sia al foglio informativo che al modulo di consenso informato.

Il foglio informativo e il modulo di consenso incorporano inoltre l'informativa per il trattamento dei dati personali in conformità a quanto previsto dal DLgs n.196/2003.

❖ Rapporti col CE nella fase post-sottomissione per rispondere alle richieste di chiarimenti avanzate.

Lo studio 'Meccanismi candidati di aterogenesi durante il periodo post-prandiale nel bambino/adolescente obeso' è stato esaminato ed approvato dal Comitato Etico della Provincia di Verona (a cui afferisce il Principal Investigator dello studio) in data 15 settembre 2011. L'obiettivo che ci si era prefissato è stato quindi raggiunto e il Centro è ora pronto per cominciare con l'arruolamento.

### **3. Studio VR\_PAN**

VR\_PAN è uno studio volto a valutare le 'Relazioni fra citologia, morfologia, istologia e massa delle isole di Langerhans e omeostasi del glucosio. Effetti della pancreatectomia parziale o totale.' Si tratta di uno studio interventistico non farmacologico no profit che vede come promotore la sezione di Endocrinologia, Diabetologia e del Metabolismo del Dipartimento di Medicina dell'Università degli studi di Verona e la collaborazione con altre sezioni e gruppi di ricerca (ARC-NET, Sezione di Anatomia e Istologia, Sezione di Chirurgia Generale B) della stessa Università. Gli obiettivi delle attività svolte per questo studio sono stati la stesura del protocollo e la sottomissione dello studio al Comitato Etico per l'approvazione.

#### **3.1 Background e razionale**

Il diabete mellito è una condizione patologica caratterizzata da multiple alterazioni metaboliche alla cui base ci sono diversi meccanismi eziopatogenetici. Il diabete di tipo 2 è la varietà più comune ed è provocato da disordini dell'azione biologica e da deficit della secrezione dell'insulina, entrambi dovuti a meccanismi non completamente definiti. Nel diabete di tipo 2 la massa delle cellule beta è ridotta. La percentuale di perdita si aggira tra il 40 e il 60 % nei soggetti diabetici e disglucemici rispetto ai soggetti normoglicemici (48,49,50,51,52). Parallelamente, negli stessi si

riscontrano un aumento della quantità delle cellule alfa ed una invariata proporzione delle altre cellule endocrine (51,52,53). Le isole del Langerhans hanno normalmente dimensioni eterogenee all'interno del pancreas e non ci sono variazioni significative nei soggetti diabetici, anche se è possibile individuarne diverse con un diametro ridotto e con una perdita di cellule beta abbastanza evidente nelle isole più grandi (49,50,51,52). Cambiamenti morfologici rilevanti delle isole riguardano la deposizione di aggregati amiloidotici (50,51,52,53), tossici per le cellule in vitro (54), che potrebbero contribuire anche in vivo alla morte delle cellule endocrine delle isole pancreatiche.

Una volta che il diabete è insorto la funzione e la massa beta cellulare possono essere ulteriormente danneggiati dall'iperglicemia (glucotossicità). Si ritiene che tale glucotossicità si manifesti soprattutto attraverso stress del reticolo endoplasmatico (ER), aumentati livelli di calcio intracellulare e disfunzione mitocondriale, con la produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) (55,56).

Un cronico aumento dei livelli plasmatici di glucosio insorge anche per carenza insulinica derivante dalla rimozione parziale del pancreas. Nell'animale da esperimento sottoposto a pancreatectomia parziale è possibile osservare cambiamenti importanti della secrezione e della sensibilità insulinica, reversibili con la correzione dell'iperglicemia (57). Le stesse conseguenze si osservano anche nell'uomo, in cui le alterazioni di secrezione e sensibilità sono in relazione all'entità della rimozione chirurgica e della glucotossicità che ne consegue (58).

Le cellule beta, oltre ad essere danneggiate dai livelli cronicamente elevati di glicemia, subiscono anche l'influenza negativa di un aumento cronico dei livelli plasmatici di acidi grassi liberi (FFA) (lipotossicità), che può manifestarsi in particolar modo nei soggetti obesi in cui c'è un'incrementata lipolisi (59,60). Gli FFA potrebbero provocare la morte delle cellule beta attraverso l'attivazione di vie apoptotiche, mediate dall'incrementata produzione di radicali dell'ossigeno tossici o dalla ridotta espressione della proteina antiapoptotica Bcl-2 (61,62,63). Accanto agli FFA anche altre molecole rilasciate dalle cellule adipose potrebbero contribuire alla comparsa del diabete non solo attraverso una riduzione della sensibilità dei tessuti periferici all'insulina ma anche attraverso alterazioni dell'espressione genica beta cellulare. La leptina, il TNF-alfa e l'IL-6, infatti, modificano l'espressione della proinsulina in vitro (64,65,66,67).

Dal punto di vista ultrastrutturale, le cellule beta dei soggetti diabetici presentano granuli secretori immaturi ed un'ipertrofia del reticolo endoplasmatico e dei mitocondri, che hanno anche membrane e creste non ben definite (68,69). Tali alterazioni si associano ad una funzionalità cellulare danneggiata, che si manifesta con un'anomala attività secretoria dell'insulina (51, 69,70,71).

In questo contesto nasce lo studio VR\_PAN con lo scopo di raccogliere ulteriori dati pertinenti alla fisiopatologia del diabete mellito e delle condizioni ad esso correlate.

### **3.2 Obiettivi e disegno dello studio**

In un periodo di tempo di circa 5 anni saranno esaminati 100 pazienti tra i 18 e i 75 anni di entrambi i sessi sottoposti a pancreasectomia totale o parziale al fine di:

1. Confrontare la morfologia (dimensioni, diametro, forma), la quantità (numero, densità), la composizione, l'architettura cellulare (cellule alfa, beta, delta e pp, depositi di amiloide) e la citologia (struttura e ultrastruttura) delle isole del Langerhans in soggetti obesi e non obesi con tolleranza glucidica normale, disglucemia e diabete di tipo 2 sottoposti a pancreasectomia totale o parziale.
2. Correlare i suddetti dati anatomici, istologici e ultrastrutturali con i dati clinici demografici e di ordine metabolico (BMI, glicemia, insulinemia....) e con il profilo genico pertinente al rischio di diabete di tipo 2, obesità e altre patologie associate.
3. Correlare i suddetti dati anatomici, istologici e ultrastrutturali con parametri di secrezione beta cellulare e di sensibilità insulinica in vivo.
4. Valutare il trascrittoma delle isole del Langerhans in pazienti obesi e non obesi con tolleranza glucidica normale, disglucemia e diabete di tipo 2, correlandolo a parametri clinici e di secrezione e sensibilità insulinica in vivo.
5. Valutare il trascrittoma del grasso peripancreatico in pazienti obesi e non obesi con tolleranza glucidica normale, disglucemia e diabete di tipo 2, correlandolo a parametri clinici e di secrezione e sensibilità insulinica in vivo.
6. Confrontare la secrezione e la sensibilità insulinica in vivo prima e dopo pancreasectomia parziale e la sensibilità insulinica in vivo prima e dopo pancreasectomia totale.

I pazienti, dopo aver dato il proprio consenso, saranno sottoposti a visita medica; saranno raccolti alcuni dati clinici (sesso, età, peso, altezza, BMI, glicemia a digiuno, HbA1c) e verrà loro prelevato un campione di sangue per la creazione di una sieroteca e di una DNA-teca.

In un sottogruppo 1 di pazienti che daranno il loro consenso verrà effettuata la valutazione della secrezione in vivo tramite carico orale di glucosio e/o della sensibilità insulinica in vivo tramite clamp euglicemico-iperinsulinemico prima dell'intervento chirurgico sul pancreas. In un sottogruppo 2 di pazienti che daranno il loro consenso verrà valutata la secrezione e/o la sensibilità insulinica in vivo anche dopo la chirurgia pancreatica.

Tutti i pazienti saranno sottoposti a genotipizzazione nel DNA leucocitario di alleli di rischio per obesità, diabete e altre patologie correlate. Nei pazienti che saranno sottoposti a pancreasectomia parziale o totale saranno effettuate analisi morfologiche, immunoistochimiche, ultrastrutturali e genetiche su pezzi di tessuto pancreatico e analisi genetiche sul tessuto adiposo peripancreatico.

### **3.3 Attività svolte in qualità di clinical project manager per lo studio VR\_PAN**

Vengono di seguito riportate le attività svolte per questo studio durante il periodo di Dottorato:

❖ collaborazione col Principal Investigator e con gli altri sperimentatori nella stesura del protocollo in particolare per quanto riguarda le seguenti sezioni:

- Background, mediante un'analisi della letteratura fornita sull'argomento oggetto dello studio. I dati presenti in letteratura sono stati inoltre utili per individuare la dimensione del campione.
- Collaborazione nella definizione delle procedure dello studio con particolare riguardo ad una chiara identificazione dell' Unità Operativa (U.O.) dove si sarebbero svolte le singole procedure e soprattutto ad un chiaro processo di gestione dei soggetti in particolare per la procedura di raccolta del consenso informato.
- Segnalazione degli AE/SAE secondo le modalità descritte al paragrafo 1.4 (cap. 4).
- Protezione dei campioni e dei dati personali. Oltre alle considerazioni fatte al paragrafo 2.3 (cap. 4) che valgono anche per questo studio si aggiunge a VR\_PAN la protezione dei campioni di genetica; le analisi su DNA e tessuti devono essere fatte in modo del tutto anonimo e l'identità di chi fornisce i campioni non deve essere nota nemmeno a chi esegue le analisi.
- Requisiti etici e regolatori, con l'indicazione delle autorizzazioni necessarie per intraprendere la sperimentazione, la possibilità di ispezioni ed audit durante lo studio e la responsabilità dello sperimentatore a tal riguardo.

La finalizzazione del protocollo, vista la particolare complessità derivante dalla partecipazione di sperimentatori afferenti a diversi dipartimenti, ha richiesto l'organizzazione di numerosi incontri per condividere le informazioni ed arrivare ad un progetto condiviso e facilmente attuabile da un punto di vista pratico.

❖ Preparazione della documentazione per la richiesta di autorizzazione al Comitato Etico della Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona e stretta collaborazione con lo stesso durante la fase di sottomissione anche mediante l'organizzazione di riunioni per discutere le criticità del protocollo. I documenti preparati sono gli stessi elencati al paragrafo 2.3. Anche per questo studio il

foglio informativo e il modulo di consenso incorporano l'informativa per il trattamento dei dati personali in conformità a quanto previsto dal DLgs n.196/2003.

❖ Rapporti col CE nella fase post-sottomissione per rispondere alle richieste di chiarimenti avanzate.

Lo studio VR\_PAN è stato esaminato ed approvato dal Comitato Etico dell'Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona in data 08 febbraio 2012. L'obiettivo prefissato è stato quindi raggiunto e il Centro è ora pronto a cominciare con l'arruolamento.

## **4. 'Lo ione $Mn^{2+}$ come sonda molecolare in vivo dell'attività dei canali del $Ca^{2+}$ del pancreas endocrino: uno studio pre-clinico'**

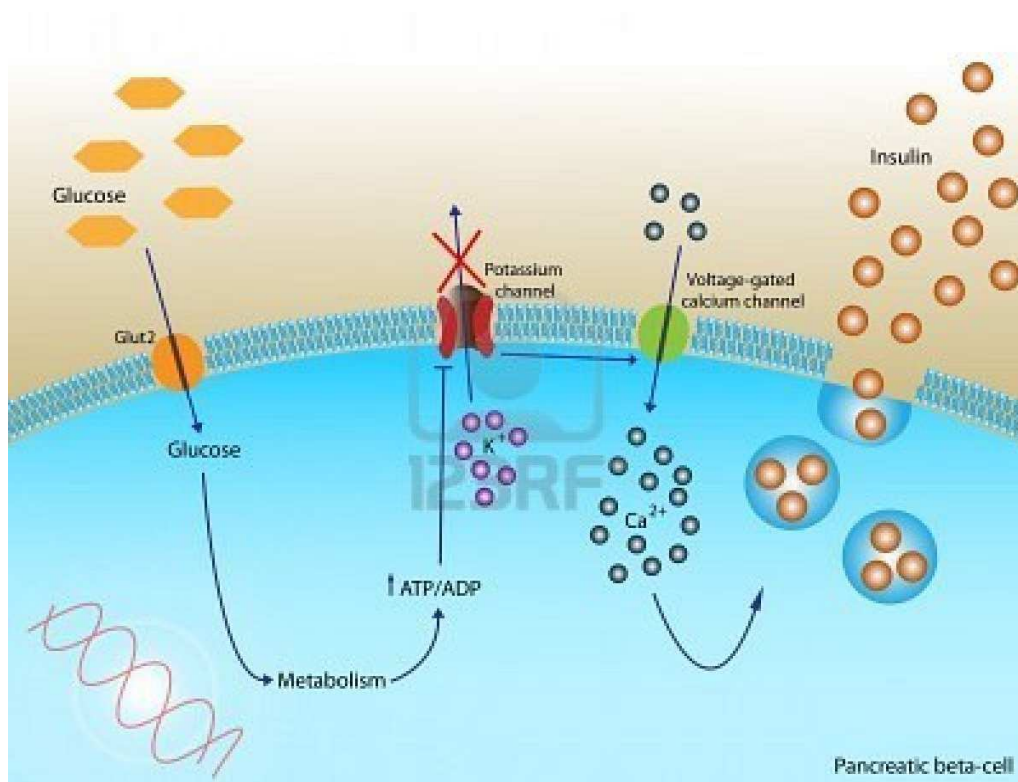
Gli obiettivi delle attività svolte per questo studio sono stati l'individuazione di un progetto di ricerca innovativo, il disegno e la realizzazione di uno studio pre-clinico come base per un futuro studio clinico.

### **4.1 Background e razionale**

Nonostante l'elevata incidenza del diabete, l'esatto meccanismo molecolare e cellulare che causa la riduzione in massa e la perdita di funzionalità delle cellule beta pancreatiche osservate nel diabete di tipo 2 rimane ancora non completamente conosciuto. Attualmente, sono disponibili solidi metodi per quantificare la massa funzionale beta-cellulare in vivo nell'uomo. Ma i parametri misurati da questi metodi riflettono il contributo aggregato sia della massa sia della funzione beta-cellulare, senza possibilità di distinguere il ruolo individuale delle due componenti. Un metodo non invasivo, applicabile nell'uomo, che consenta di quantificare le cellule beta pancreatiche in vivo assumerebbe, pertanto, enorme valore con un campo vastissimo di applicazioni, sia nel diabete di tipo 2, sia anche nel diabete di tipo 1, in cui dati recenti ottenuti nell'uomo fanno sospettare che, in netto contrasto con i modelli murini, esista in molti pazienti un patrimonio beta-cellulare residuo, anche ad anni di distanza dalla diagnosi.

Nell'ultimo decennio diversi studi hanno dimostrato che il  $Mn^{2+}$  entra nelle cellule attraverso i canali  $Ca^{2+}$  voltaggio dipendenti. L'aumento della concentrazione di  $Mn^{2+}$  modifica le caratteristiche paramagnetiche delle cellule e questo fenomeno può essere visto e misurato attraverso risonanza magnetica (MRI). Pertanto il  $Mn^{2+}$  rappresenta una sonda molecolare per dare 'visibilità' paramagnetica selettiva alle cellule con elevata attività dei canali del  $Ca^{2+}$  voltaggio-

dipendenti. Nelle beta-cellule l'attivazione dei canali del  $\text{Ca}^{2+}$  voltaggio-dipendenti e l'ingresso dello ione calcio nella cellula sono eventi molecolari situati a monte dell'esocitosi del granulo di insulina (FIGURA 6). L'attività di questi canali è fasica e aumenta ogni volta che la secrezione di insulina è stimolata fisiologicamente dai nutrienti. Pertanto, specie in condizione di stimolazione della secrezione insulinica, l'aumento di attività dei canali del  $\text{Ca}^{2+}$  voltaggio dipendenti causerà un accumulo selettivo di  $\text{Mn}^{2+}$  ed esalterà la visualizzazione delle beta-cellule in MRI. Di conseguenza il  $\text{Mn}^{2+}$  (e agenti capaci di rilasciare  $\text{Mn}^{2+}$ ) potrebbe essere utilizzato come un indicatore indiretto in vivo della massa/attività delle cellule beta pancreatiche.



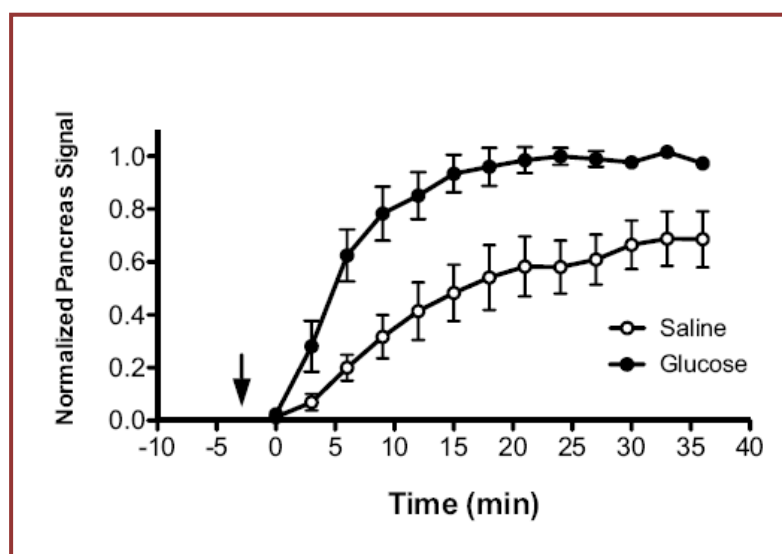
**FIGURA 6:** meccanismo di rilascio dell'insulina dalle cellule beta pancreatiche

Nel 2006 Skjold et al. (69) hanno condotto uno studio su 10 volontari sani con lo scopo di sviluppare un metodo basato sull' MRI per valutare in vivo l'attività dei canali  $\text{Ca}^{2+}$  del miocardio in maniera indiretta attraverso la misura dell'ingresso nelle cellule di  $\text{Mn}^{2+}$  in seguito all'infusione di MnDPDP (manganese dipiridossil difosfato), un mezzo di contrasto ad oggi approvato per la valutazione delle lesioni del fegato (Teslascan®).

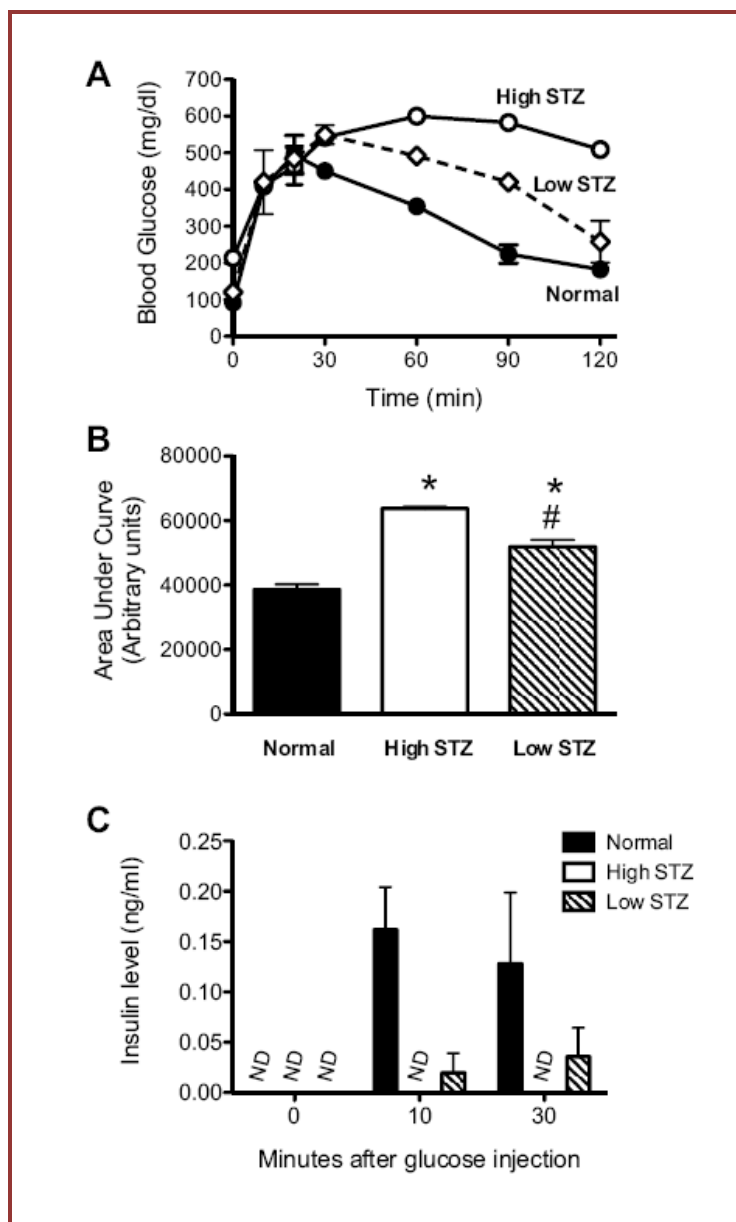
Non sono stati finora eseguiti studi analoghi sull'uomo per quanto riguarda le cellule beta pancreatiche. I pochissimi studi finora condotti si limitano a esperimenti in vitro (70) o a studi pre-clinici (71). In particolare, per quanto riguarda questi ultimi, Antkowiak et al. hanno condotto uno studio su 14 topi: 5 topi di controllo, 5 topi resi diabetici con un'alta dose (180 mg/Kg) di

streptozotocina e 4 topi resi diabetici con una bassa dose (100 mg/kg) di streptozotocina. I topi sono stati quindi sottoposti ad una infusione di 100 mcl di soluzione fisiologica o glucosata e 2 minuti dopo sono stati loro somministrati intraperitonealmente 50 mcl di  $MnCl_2$ . Sono state acquisite immagini del pancreas tramite MRI ogni 3 minuti per 45 minuti. Tutti i topi sono stati inoltre sottoposti ad un test intraperitoneale di tolleranza al glucosio mediante infusione intraperitoneale di soluzione glucosata e successivo campionamento del sangue a diversi tempi per la misurazione dei livelli di glucosio e insulina. Dopo il completamento degli studi in vivo i topi (dopo una notte di digiuno) sono stati sacrificati, è stato rimosso e pesato il pancreas e, dopo estrazione delle isole pancreatiche, è stata misurata la concentrazione di insulina. Questo studio ha mostrato:

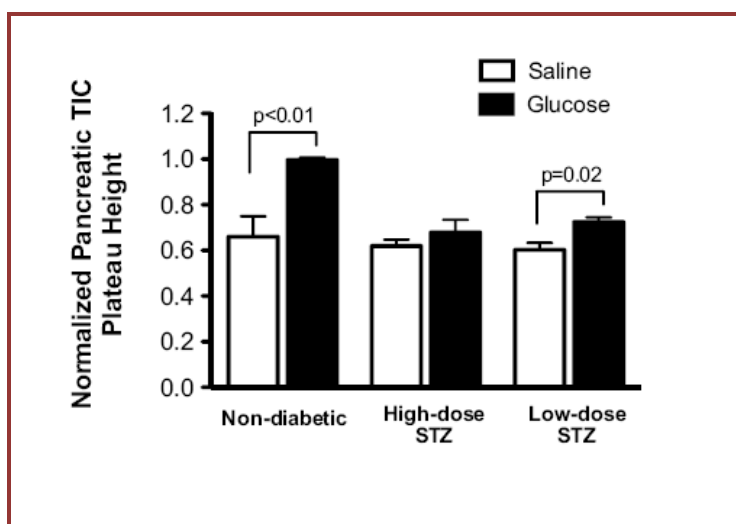
- una perdita di tolleranza al glucosio nei topi trattati con streptozotocina in misura dose-dipendente (FIGURA 8/A);
- una diminuzione dose-dipendente del rilascio di insulina nei topi trattati con streptozotocina (FIGURA 8/C);
- un aumento statisticamente significativo del segnale del pancreas dopo infusione di soluzione glucosata nei topi di controllo non diabetici, nei topi trattati con bassa dose di streptozotocina, ma non nei topi trattati con alta dose di streptozotocina (FIGURA 9);
- un contenuto di insulina notevolmente più basso nei topi trattati con alta dose di streptozotocina (41 pmol insulina/mg pancreas) e nei topi trattati con bassa dose di streptozotocina (72 pmol insulina/mg pancreas) rispetto ai topi di controllo (942 pmol insulina/mg pancreas).



**FIGURA 7:** segnale normalizzato del pancreas dopo infusione di soluzione glucosata e soluzione fisiologica nei topi di controllo



**FIGURA 8:** livelli di glucosio e insulina nel sangue nei topi di controllo e trattati con alta o bassa dose di streptozotocina



**FIGURA 9:** segnale a plateau normalizzato del pancreas nei topi di controllo, trattati con alta o bassa dose di streptozotocina, dopo infusione di soluzione fisiologica o glucosata



Gli autori hanno concluso che l'MRI con l'utilizzo di un mezzo di contrasto che rilascia  $Mn^{2+}$  ha un elevato potenziale per essere utilizzato come metodica non invasiva per il monitoraggio della funzionalità delle cellule beta in vivo ed ha una sufficiente sensibilità per misurare la progressiva perdita della funzionalità delle cellule beta che avviene nel diabete.

Lo studio di Antkowiak et al. presenta però dei limiti:

1. lo stimolo secretorio per la beta-cellula non è standardizzato ed è variabile sia nel tempo sia fra animali;
2. la normalizzazione del segnale beta-cellulare è insufficiente, come dimostrato dagli alti valori di segnale durante infusione di fisiologica (FIGURA 7), quando le beta cellule hanno bassa attività secretoria;
3. il patrimonio beta-cellulare non è stato accuratamente quantificato, impendendo pertanto di studiare la relazione fra massa beta-cellulare e segnale al di fuori di un ambito, nel migliore dei casi, semi-quantitativo.

Pertanto, rimane largamente inesplorata la domanda se il  $Mn^{2+}$  possa essere utilizzato come strumento per lo studio morfo-funzionale semi-quantitativo o quantitativo del pancreas endocrino e, in particolare, del patrimonio beta cellulare.

## **4.2 Obiettivi dello studio, risultati ad oggi ottenuti e sviluppi futuri**

Obiettivo dello studio è di quantificare nel pancreas di ratto il segnale paramagnetico generato dal  $Mn^{2+}$  a seguito di uno stimolo standardizzato della secrezione beta-cellulare in condizioni di patrimonio beta-cellulare normale, ridotto/assente o aumentato. I risultati dello studio, se incoraggianti, sarebbero poi utili per la pianificazione di studi clinici in volontari sani e in pazienti. Lo studio si è articolato in due sottoprogetti. Obiettivo del sottoprogetto 1 è l'individuazione delle caratteristiche e delle modalità di rilevazione del segnale generato dall'infusione di  $Mn^{2+}$  durante uno stimolo secretorio beta-cellulare non-standardizzato. A tal scopo si è condotto in collaborazione con la Sezione di Anatomia ed Istologia dell'Università degli Studi di Verona uno studio ex vivo su 12 ratti, divisi in gruppo C (n=6) e gruppo IVGTT (n=6). Lo studio ha avuto la durata di 60'. Al tempo 0', in tutti i ratti è stato somministrato  $MnCl_2$  (0.1 mol/kg) per via intraperitoneale. Subito dopo, ai ratti del gruppo C è stata somministrata soluzione fisiologica (2 ml/kg) per via e.v., ai ratti del gruppo IVGTT è stato eseguito un IVGTT (1 g/kg) somministrando un bolo di soluzione glucosata 50% per via e.v. E' stato eseguito un monitoraggio della glicemia fino al 60'. Al tempo 60', gli animali sono stati sacrificati, e pancreas e fegato sono stati rapidamente espunti, congelati

e conservati a -80° C, fino al momento dello studio di MRI ex vivo, durante il quale è stato misurato il tempo di rilassamento T1.

Per l'interpretazione dei dati vale la seguente relazione:

$$1/T1(post) - 1/T1(pre) = rI \times C$$

dove T1 (post) = tempo di rilassamento dopo la somministrazione di manganese e T1 (pre) = tempo di rilassamento prima della somministrazione di manganese ( che è uguale per tutti gli animali).

1/T1 (post) è dunque proporzionale alla concentrazione di manganese nel pancreas.

Altri organi (ghiandole salivari e muscolo scheletrico) sono stati prelevati e in un secondo momento ne è stato valutato il tempo di rilassamento T1, allo scopo di individuare un organo il cui segnale possa essere considerato simile a quello del pancreas (endocrino+esocrino) in assenza di segnale di origine beta-cellulare.

Rispetto allo studio di Antkowiak il sottoprogetto 1 ha i seguenti vantaggi:

- 1- sicura individuazione del segnale di pertinenza pancreatica grazie alla scansione effettuata ex vivo;
- 2- esplorazione del segnale generato dal Mn<sup>2+</sup> in altri organi, potenzialmente candidati a essere utilizzati in vivo per normalizzare il segnale di provenienza pancreatica.

I risultati ottenuti sono riassunti nella TABELLA 1. Nei dati presentati il segnale del pancreas è stato normalizzato rispetto il segnale del fegato.

		Valore medio	Deviazione standard
<b>MnCl<sub>2</sub>+glucosio</b>			
	1/T1(post) pancreas	3,7079456	0,885134
	1/T1 ghiandole salivari	1,9233339	0,342029
	1/T1 muscolo	1,0945138	0,141518
<b>MnCl<sub>2</sub>+fisiologica</b>			
	1/T1(post) pancreas	2,762328	0,27982
	1/T1 ghiandole salivari	1,8410892	0,157508
	1/T1 muscolo	0,9586238	0,030681

**TABELLA 1:** valori di 1/T1 di pancreas, ghiandole salivari e muscolo nei ratti dopo infusione di soluzione glucosata o fisiologica e MnCl<sub>2</sub>.

I risultati sopra riportati mostrano:

- ✓ esistenza di un significativo gradiente di segnale fra muscolo scheletrico a riposo e una ghiandola esocrina non stimolata, a istologia simile al pancreas esocrino (ghiandole salivari);
- ✓ assenza di incremento del segnale fra condizioni basali e IVGTT nelle ghiandole salivari e nel tessuto muscolare;
- ✓ incremento robusto e significativo del segnale fra condizioni basali e IVGTT nel pancreas, ragionevolmente attribuibile al solo pancreas endocrino.

Complessivamente questi risultati confermano ed estendono i dati riportati da Antkowiak e incoraggiano a proseguire con il sottoprogetto 2 il cui obiettivo è quello di quantificare nel pancreas di ratto il segnale paramagnetico generato dal  $Mn^{2+}$  a seguito di uno stimolo standardizzato della secrezione beta-cellulare in condizioni di patrimonio beta-cellulare normale, ridotto/assente o aumentato. In questo sottoprogetto è stato coinvolto l'Istituto di Patologia Speciale Medica dell'Università Cattolica del Sacro Cuore di Roma. Il sottoprogetto, recentemente approvato dalla 'Commissione per la valutazione etica di sperimentazioni animali e di correttezza della gestione dell'animal care' prevede l'utilizzo di 36 ratti, divisi in tre gruppi: 12 di controllo (C), 12 resi obesi (OB) tramite dieta ad alto tenore lipidico ("high fat diet") e 12 resi diabetici (D) tramite trattamento con streptozotocina (STZ). Gli animali di ciascun gruppo, dopo essere stati preparati nei 5 giorni precedenti (72), saranno randomizzati in un rapporto 1:1 a essere sottoposti a clamp iperglicemico (CLAMP) o a controllo temporale con soluzione fisiologica (SALINE). Campioni basali di sangue saranno raccolti ai tempi -30', -15' e 0'. Al tempo -10' sarà cominciata una infusione e.v. a velocità costante di  $MnCl_2$ , preceduta da un prime, che durerà fino al tempo + 180'. Al tempo 0', nei ratti CLAMP, sarà iniziata una infusione e.v. di glucosata 20% allo scopo di innalzare rapidamente e mantenere la glicemia ad un livello di 6 mmol/l superiore alla concentrazione basale. La glicemia sarà misurata in tempo reale a intervalli frequentissimi, per aggiustare la velocità di infusione della soluzione glucosata in modo da mantenere la glicemia al livello desiderato di + 6mmol/L rispetto al basale. Nei ratti SALINE al tempo 0' verrà infusa e.v. una soluzione di NaCl 9% fino alla fine dello studio. Sia nei ratti CLAMP che nei ratti SALINE, a tempi prefissati, saranno eseguiti prelievi di sangue per la misura di C-peptide/insulina. Al tempo 180', i ratti saranno sacrificati, e verranno prelevati e congelati pancreas, fegato, milza e ghiandola parotide. Tali organi verranno successivamente sottoposti a MRI per la misurazione del tempo di rilassamento T1. Il fegato, la milza ed in particolare la ghiandola parotide per la somiglianza alla componente esocrina del pancreas, saranno studiati come potenziali candidati a fungere da tessuto di controllo per una futura

applicazione in vivo di agenti rilascianti  $Mn^{2+}$  nello studio morfo-funzionale del pancreas endocrino.

In caso di risultati incoraggianti e nella prospettiva dell'immissione in commercio di nuovi agenti di contrasto per MRI a rilascio di  $Mn^{2+}$ , questo studio potrebbe rappresentare una solida base pre-clinica a supporto di studi non invasivi morfo-funzionali del pancreas endocrino nell'uomo. L'applicazione di tali studi sarebbe molto estesa, spaziando dalla diagnosi, prognosi e scelta della terapia del diabete di tipo 2, alla valutazione del patrimonio beta-cellulare residuo nel diabete di tipo 1 neo-diagnosticato, per giungere fino alla valutazione della vitalità del tessuto trapiantato in trapianti di pancreas o di isole del Langerhans.

#### **4.3 Attività svolte in qualità di clinical project manager per lo studio 'Lo ione $Mn^{2+}$ come sonda molecolare in vivo dell'attività dei canali del $Ca^{2+}$ del pancreas endocrino: uno studio pre-clinico'**

Vengono di seguito riportate le attività svolte per questo studio durante il Dottorato:

- ❖ confronto con esponenti del mondo farmaceutico di rilievo nell'area diabetologica per individuare aree di ricerca non ancora sufficientemente esplorate e che potrebbero risultare d'interesse per l'industria nello sviluppo futuro di nuovi farmaci nell'area del diabete e malattie del metabolismo;
- ❖ analisi della letteratura sulla base delle informazioni raccolte per verificare che nulla fosse stato ancora scritto a riguardo dell'argomento oggetto di questo studio ed eventualmente raccogliere le informazioni già pubblicate;
- ❖ organizzazione di incontri con i medici della Sezione di Anatomia e Istologia dell'Università degli Studi di Verona per mettere a punto un protocollo adatto a verificare gli obiettivi che ci si era prefissati. Acquisto di tutto il materiale, inclusi gli animali, necessario per la sperimentazione;
- ❖ organizzazione di riunioni durante l'esecuzione del sottoprogetto 1 per discutere dell'avanzamento dello studio, individuare le criticità e porvi rimedio;
- ❖ gestione dei contatti con i principali produttori di mezzi di contrasto per analizzare la possibilità di entrata in commercio a breve di agenti di contrasto che rilascino manganese;
- ❖ collaborazione con l'Istituto di Patologia Speciale Medica dell'Università Cattolica del Sacro Cuore di Roma per la messa a punto del sottoprogetto 2; in particolare si è collaborato per la stesura dei documenti da presentare alla 'Commissione per la valutazione etica di sperimentazioni animali e di correttezza della gestione dell'animal care';

- ❖ collaborazione col Servizio di Medicina del Lavoro dell'Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona per definire la modalità di raccolta dei campioni per il dosaggio del manganese;
- ❖ progettazione di uno studio su volontari sani da intraprendere se i risultati dello studio pre-clinico saranno soddisfacenti e non appena un nuovo mezzo di contrasto a rilascio di  $Mn^{2+}$  sarà disponibile.

L'Istituto di Patologia Speciale Medica dell'Università Cattolica del Sacro Cuore di Roma ha approvato il progetto. L'obiettivo prefissato di mettere a punto uno studio pre-clinico è stato quindi raggiunto. Il progetto proseguirà anche dopo la conclusione del presente Dottorato di Ricerca con l'esecuzione del sottoprogetto 2 e, se vi saranno le condizioni, la successiva realizzazione di uno studio clinico.

## **5. Relazione fra le attività svolte negli studi clinici e le aree di project management**

Se si confrontano le attività svolte durante il Dottorato di Ricerca e descritte nei paragrafi precedenti con le aree di project management analizzate nel capitolo 2 si può vedere come ognuna di queste attività può essere fatta rientrare in una specifica area. La distribuzione delle attività nelle varie aree del project management è la seguente:

### **GESTIONE DELL'AMBITO DI PROGETTO**

Rientra in quest'area la *stesura del protocollo*, dato che in questo documento è definito tutto ciò che è incluso nel progetto 'studio clinico' e ne descrive gli obiettivi.

### **GESTIONE DEI TEMPI e DEI RISCHI**

Rientrano in quest'area i *rapporti col promotore* e le *riunioni di team*, in quanto queste sono due occasioni in cui si rivedono le tempistiche dello studio e si verifica se esse sono in linea con quanto concordato. In caso contrario si cerca di porre rimedio a quelle criticità che potrebbero ostacolare il rispetto delle tempistiche. In generale il confronto col promotore e col team è il momento in cui si rivedono le criticità dello studio.

### **GESTIONE DEI COSTI**

Rientrano in quest'area:

- ✓ i *rapporti col promotore* e le *riunioni di team*, trattandosi rispettivamente dell'occasione in cui si definiscono i costi e del momento in cui si valutano eventuali scostamenti rispetto ai costi preventivati;
- ✓ la *preparazione della documentazione per la richiesta di autorizzazione al CE* dovendo fornire al CE, in fase di sottomissione, un preventivo dei costi e della loro copertura.

### GESTIONE DELLA QUALITA'

Rientra in quest'area tutto ciò che ha a che fare col monitoraggio per l'esecuzione di uno studio conforme alle *GCP*.

### GESTIONE DELLE RISORSE UMANE

Rientrano in quest'area le *riunioni di team* e la *gestione dei documenti essenziali* dal momento che, uno dei documenti essenziali, è il form aggiornato con tutti i membri dello staff e, per ciascuno di essi, l'identificazione delle attività per le quali ha ricevuto la delega dallo sperimentatore principale.

### GESTIONE DELLA COMUNICAZIONE

Rientrano in quest'area le *riunioni di team*, la gestione dei *rapporti col CE*, dei *rapporti col promotore*, delle *collaborazioni interdipartimentali* e la creazione di *reti collaborative con altri gruppi di ricerca*.

### GESTIONE DELL'APPROVIGIONAMENTO

Rientra in quest'area la *gestione organizzativa* dello studio con la decisione se affidare ad eventuali società esterne (es. laboratori, gruppi di statistica) l'esecuzione di specifiche attività dello studio e la gestione dei rapporti con queste società.

## CAPITOLO 5

### Il piano operativo di progetto applicato alla pianificazione e alla gestione degli studi clinici

Il piano operativo di progetto è uno strumento operativo di pianificazione e gestione che consente di guidare le fasi tecniche di un progetto. Un piano operativo di progetto descrive quali attività devono essere fatte, da chi e quando, il costo di queste attività e come controllarle (77,2). Di seguito viene descritta la messa a punto di un piano operativo per la pianificazione e gestione degli studi clinici ('P.O.P.') (FIGURA 10).

Codice studio
Promotore

Data preparazione o ultima revisione

HV's/P
n° visite

Screenati
Randomizzati
Completati

Data prevista
Data effettiva

Sottomissione ISS  
Sottomissione CE  
Riunione ISS  
Riunione CE  
Approvazione AC  
Approvazione CE  
Ricevimento Approvaz. AC  
Ricevimento Approvaz. CE  
Site Initiation Visit  
FS FV  
FS FD  
LS LD  
LS LV  
Chiusura studio  
Ricevimento Report  
Archiviazione

Costi aziendali figure professionali

	ore previste	ore effettive	costo previsto	costo effettivo
PRE-STUDIO			-	-
STUDIO				
POST-STUDIO				-
TOTALE				

TOT ORE PREVISTE	TOT ORE EFFETTIVE	TOTALE COSTO PREVISTO	TOTALE COSTO EFFETTIVO

**FIGURA 10:** il piano operativo di progetto (P.O.P.).

Come tutti i progetti anche uno studio clinico può essere diviso in più fasi. La 'fase esecutiva' di un progetto, così come descritta al capitolo 3, per gli studi clinici può essere distinta in 3 ulteriori fasi: 'pre-studio', 'studio' e 'post-studio'.

La fase 'pre-studio' si apre formalmente con un incontro con cui il promotore ('visita di pre-studio') che sancisce la formale assegnazione dello studio e si conclude con la visita di apertura del

centro, sempre effettuata dal promotore, che avviene una volta che l'iter autorizzativo ed amministrativo si è concluso e la fase clinica può essere avviata.

La fase 'studio' è la fase clinica ed è compresa tra la prima visita del primo soggetto in studio (first subject first visit), che generalmente è una visita di screening, fino all'ultima visita dell'ultimo soggetto in studio (last subject last visit), che generalmente è una visita di follow-up.

Per ultima vi è la fase 'post-studio', subito a valle della fase clinica, che è caratterizzata da tutte le attività di chiusura dello studio.

Nel P.O.P. queste 3 fasi sono state separate e poste in sequenza. Come per qualsiasi altro progetto ognuna di queste fasi prevede processi di pianificazione, esecuzione e monitoraggio ed è costituita da sottofasi.

La milestone della fase 'pre-studio' è la data di riunione del Comitato Etico (CE) o, per gli studi di fase 1, dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS) in cui viene esaminato lo studio. Come detto al capitolo 2 una milestone è un'attività generalmente con una data fissa di esecuzione che influenza le date delle altre attività del progetto. La data della riunione del CE o dell'ISS determina infatti la data di sottomissione del dossier a queste due autorità e influenza le date di tutte le altre attività di questa fase. Considerando quindi la milestone 'riunione del CE o ISS' si possono individuare delle sottofasi: una sottofase 'post-riunione' ed una sottofase 'pre-riunione' che per consentire una maggior sequenzializzazione della attività può essere a sua volta suddivisa in una sottofase 'pre-sottomissione' e in una sottofase 'post-sottomissione' con riferimento alla sottomissione del dossier all'AC. La fase 'pre-sottomissione' comprende tutte le attività per la preparazione del dossier, la fase 'post-sottomissione' tutte le attività per preparare il centro alla successiva fase clinica, come ad esempio l'organizzazione delle attività di laboratorio, la gestione del farmaco, l'addestramento del team e l'eventuale assegnazione di attività a società esterne (outsourcing).

Nel P.O.P. sono inoltre elencate le criticità maggiormente ricorrenti al fine di consentirne un attento monitoraggio e previste, in punti considerati chiave, delle riunioni per condividere le informazioni col team di progetto. Rientrano tra le attività della sottofase 'post-riunione' la firma del contratto col quale si chiude l'iter amministrativo e la visita di inizio studio effettuata dal promotore (site initiation visit) che, come detto in precedenza, determina la fine di questa fase iniziale.

Il P.O.P. sviluppato non è però solo un elenco di tutte le attività da eseguire ma per ciascuna di esse, dove è applicabile, prevede che venga inserita la data e il tempo previsto e accanto la data e il tempo reali e il numero di risorse impiegate. Prevede inoltre dei momenti di controllo dello studio in corrispondenza di attività considerate critiche o di particolare importanza. In questa fase il controllo viene effettuato in occasione dell'arrivo del verbale di approvazione dell'Autorità



Competente (ISS o Direttore Generale), della firma del contratto e della riunione di presentazione dello studio al team come momento fondamentale per condividere gli aspetti operativi dello stesso. (FIGURA 11)

Codice studio		Promotore				NUOVO STUDIO	
Attività pre-sottomissione				ore previste	ore effettive		
<input type="checkbox"/>	Riunione pre-studio	Data		0	0		
<input type="checkbox"/>	Incontro con promotore	Data		0	0		
<input type="checkbox"/>	Definizione collaborazioni U.O. dell'AOUI			0	0		
<input type="checkbox"/>	Approvazione dello sponsor per le attività in "outsourcing" e contratti con società esterne			0	0		
<input type="checkbox"/>	Definizione protocollo	Data prevista		Data effettiva	0	0	
<input type="checkbox"/>	Preparazione dossier ISS			0	0		
<input type="checkbox"/>	Preparazione dossier CE			0	0		
<input type="checkbox"/>	Verifica criticità: Attività di laboratorio, installazione/addestramento software, farmaco			0	0		
<input type="checkbox"/>	Delega sottomissione del promotore			0	0		
SOTTOMISSIONE ISS		Data prevista		Data effettiva			
SOTTOMISSIONE CE		Data prevista		Data effettiva			
Attività post-sottomissione				ore previste	ore effettive		
<input type="checkbox"/>	Riunione pre-studio	Data		0	0		
<input type="checkbox"/>	Attività di recruitment			0	0		
RIUNIONE ISS		Data prevista		Data effettiva			
RIUNIONE CE		Data prevista		Data effettiva			
Attività post-riunione				ore previste	ore effettive		
Ricevimento approvazione AC		Data prevista		Data effettiva		<input type="checkbox"/> Ricevimento verbale/delibera	
Ricevimento approvazione CE		Data prevista		Data effettiva			
Sviluppo contratto finale		Data		0	0	<input type="checkbox"/> Contratto finalizzato	
<input type="checkbox"/>	Attività laboratorio: normal Ranges, coordinamento Laboratorio Locale e/o Centrale, preparazione Richieste Analisi, acquisto materiale, addestramento gestione campioni biologici			0	0		
<input type="checkbox"/>	Definizione tabelle lavoro / cartelle cliniche del Centro			0	0		
<input type="checkbox"/>	Gestione farmaco: tempistiche arrivo farmaco, gestione procedure allestimento farmaco, addestramento procedure somministrazione.			0	0		
<input type="checkbox"/>	Preparazione form CRC			0	0		
<input type="checkbox"/>	Allestimento TMF			0	0		
<input type="checkbox"/>	Gestione attività outsourcing (CRF, monitoraggio, ...)			0	0		
<input type="checkbox"/>	Installazione / addestramento software (inserimento dati in CRF elettroniche, test cognitivi, sistema centralizzato randomizzazione, ...)			0	0		
Site initiation visit		Data prevista		Data effettiva	0	0	
<input type="checkbox"/>	Addestramento procedure CRC per personale AOUI/esterno			0	0		
<input type="checkbox"/>	Riunione presentazione studio	Data		0	0	<input type="checkbox"/> Verbale di riunione	
<input type="checkbox"/>	Allestimento documento ingegneria clinica			0	0		

FIGURA 11: il P.O.P. relativo alla sottofase 'pre-studio'

Il P.O.P. della fase 'studio' (FIGURA 12) è strutturato in maniera analoga al precedente. In questa fase vengono individuate delle attività che devono essere eseguite durante tutta questa fase,

altre invece vengono sequenzializzate mediante l'assegnazione a sottofasi. Le sottofasi qui individuate sono quelle di 'screening', 'studio' e 'follow-up'. Le milestone sono la prima visita del primo soggetto in studio (*first subject first visit* FSFV), la prima somministrazione di farmaco (*first subject first dosing* FSFD), l'ultima visita dell'ultimo soggetto in studio (*last subject last visit* LSLV) e l'ultima somministrazione del farmaco (*last subject last dosing* LSLD). Queste date vengono pianificate ad inizio studio. Anche in questo caso è previsto un momento di controllo dello studio in corrispondenza ad una riunione col team. Questo infatti costituisce il momento ideale per fare il punto sull'avanzamento dello studio e discutere eventuali criticità.

Codice studio 
Promotore 

←
→
🔍
NUOVO STUDIO

Attività		ore previste	ore effettive
<b>Durante tutto lo studio</b>	<input type="checkbox"/> Riunione pianificazione attività <span style="float: right;">Data <input style="width: 50px;" type="text"/></span>	0	0
	<input type="checkbox"/> Aggiornamento periodico al Promotore	0	0
	<input type="checkbox"/> Gestione visite di monitoraggio	0	0
	<input type="checkbox"/> Invio documenti del Promotore al CE	0	0
	<input type="checkbox"/> Sottomissione emendamento/i	0	0
	<input type="checkbox"/> Aggiornamento TMF	0	0
	<input type="checkbox"/> Risoluzione data queries	0	0
	<input type="checkbox"/> Inserimento dati in CRFs	0	0
	<input type="checkbox"/> Attività di Project Management di supporto alle attività dello studio	0	0
	<input type="checkbox"/> Gestione dei sistemi informatizzati (RAMOS, spirometrie, ECG...)	0	0
	<input type="checkbox"/> Riunione durante lo studio <span style="float: right;">Data effettiva <input style="width: 50px;" type="text"/></span>	0	0
	<input type="checkbox"/> Gestione contabilità farmaco	0	0
<b>Screening</b>	<b>FSFV</b> <span style="float: right;">Data prevista <input style="width: 50px;" type="text"/> Data effettiva <input style="width: 50px;" type="text"/></span>		
	<input type="checkbox"/> Allestimento farmaco	0	0
	<input type="checkbox"/> Attività infermieristica	0	0
	<input type="checkbox"/> Attività medica	0	0
	<input type="checkbox"/> Aggiornamento OSSC/CE con data FSFV <span style="float: right;">Data prevista <input style="width: 50px;" type="text"/> Data effettiva <input style="width: 50px;" type="text"/></span>	0	0
	<input type="checkbox"/> Attività di recruitment	0	0
<b>Studio</b>	<b>FSFD</b> <span style="float: right;">Data prevista <input style="width: 50px;" type="text"/> Data effettiva <input style="width: 50px;" type="text"/></span>		
	<input type="checkbox"/> Attività infermieristica	0	0
	<input type="checkbox"/> Attività medica	0	0
	<input type="checkbox"/> Controlli periodici farmaco	0	0
	<input type="checkbox"/> Allestimento farmaco	0	0
	<input type="checkbox"/> Aggiornamento annuale CE	0	0
	<b>LSLD</b> <span style="float: right;">Data prevista <input style="width: 50px;" type="text"/> Data effettiva <input style="width: 50px;" type="text"/></span>		
<b>Follow up</b>	<input type="checkbox"/> Smaltimento farmaco	0	0
	<input type="checkbox"/> Attività infermieristica	0	0
	<input type="checkbox"/> Spedizione finale campioni	0	0
	<input type="checkbox"/> Attività medica	0	0
	<b>LSLV</b> <span style="float: right;">Data prevista <input style="width: 50px;" type="text"/> Data effettiva <input style="width: 50px;" type="text"/></span>		

FIGURA 12: il P.O.P. relativo alla sottofase 'studio'

Il P.O.P. della fase ‘post-studio’ (FIGURA 13), analogamente a quello delle altre fasi, elenca le attività da svolgere una volta che la fase clinica si è conclusa. Anche questa fase prevede un momento di controllo durante una riunione col team, questo è infatti un momento utile per condividere i risultati e le criticità emerse durante lo studio di modo da sviluppare sistemi per impedire che si verifichino negli studi futuri. E’ inoltre durante questa riunione che viene effettuato il consuntivo del tempo dedicato allo studio. La fase ‘post-studio’ termina con la stesura del clinical study report e l’archiviazione dello studio. Lo studio può a questo punto considerarsi concluso.

Attività	data prevista	data effettiva	ore previste	ore effettive
<input type="checkbox"/> Riunione post studio / di validazione			0	0
<input type="checkbox"/> Aggiornamento OSSC/CE con data chiusura centro			0	0
<input type="checkbox"/> Aggiornamento OSSC/CE con report			0	0
<input type="checkbox"/> Stesura report ed invio al CE			0	0
<input type="checkbox"/> Ricevimento report ed invio al CE			0	0
<input type="checkbox"/> Archiviazione			0	0

☐ Verbale di riunione

**FIGURA 13:** il P.O.P. relativo alla sottofase ‘post-studio’

Infine, nel P.O.P., una formula associa il numero di risorse al tempo effettivo calcolando così il costo reale di ognuna di queste 3 fasi (FIGURA 9).

Concludendo, il P.O.P. sviluppato consente di:

- avere un elenco di tutte le attività che, se seguite, assicurano che lo studio sia conforme ai requisiti di legge e di qualità (GCP)
- pianificare il numero di risorse
- monitorare le milestone e l’avanzamento del progetto
- confrontare il tempo effettivo con il tempo stimato e valutare eventuali scostamenti
- confrontare le date effettive con le date pianificate e valutare eventuali scostamenti
- identificare e monitorare le criticità
- fissare incontri di team in momenti salienti del progetto

Riportando questi punti alle aree di project management descritte al capitolo 2 possiamo dire che il piano di progetto così strutturato consente una gestione di tutte le aree individuate, ovvero tempi, costi, qualità, risorse umane, comunicazione, rischi e approvvigionamento.

## CAPITOLO 6

### **Valutazione dei ricercatori sull'utilità della figura del 'clinical project manager' nella gestione di studi clinici**

In un progetto di ricerca 'Alcohol and Pregnancy Project' (78) condotto in Australia, alla conclusione del progetto, fu chiesto con un questionario ai ricercatori di esprimere la propria opinione sull'utilità dell'applicazione del project management ai progetti di ricerca medica. Di 16 ricercatori intervistati risposero in 15 e queste furono globalmente le risposte:

Il project management è utile:

- nella comunicazione e nell'integrazione tra i vari professionisti
- nel chiarificare gli obiettivi
- per il raggiungimento dei risultati e per ottenere un'elevata performance
- nel problem solving e nel prevenire alcuni problemi
- nello stabilire e mantenere i ruoli del team
- per mantenere il progetto aderente a quanto pianificato
- per avere un costante aggiornamento sull'avanzamento del progetto
- per assicurare che il progetto rispetti il budget e le tempistiche stabilite.

I ricercatori concordarono che il project management contribuisce sostanzialmente alla ricerca e ne traggono beneficio sia gli aspetti manageriali che scientifici dei progetti di ricerca medica. Sottolinearono inoltre l'importanza di una figura di project manager all'interno del team che si occupi di tutti questi aspetti.

Uno studio simile condotto in Spagna in ambito oncologico (79) ha portato a conclusioni analoghe alle precedenti.

Sull'esempio di quanto già presente in letteratura, si è inviato un questionario per un'indagine conoscitiva sull'utilità della presenza di un clinical project manager nella gestione di trial clinici ad alcuni medici dell'Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona con i quali si è collaborato in questi anni ed in particolare durante il periodo di Dottorato. Dei 30 ricercatori a cui è stato inviato il questionario si è ottenuta risposta da 23.

Il questionario prevedeva 8 domande di seguito elencate a cui assegnare un punteggio da 1 a 10, dove 1-5 veniva indicato come range di valutazione negativo, 6-7 positivo e 8-10 ottimale:

*Quanto ritiene utile la presenza di un project manager:*

*1- nella gestione dei rapporti col promotore?*

*2- nella fase di stesura di un protocollo?*

*3- nella sottomissione della documentazione / gestione dei rapporti col CE?*

*4- nel monitoraggio delle risorse (economiche ed umane) allocate ad un progetto?*

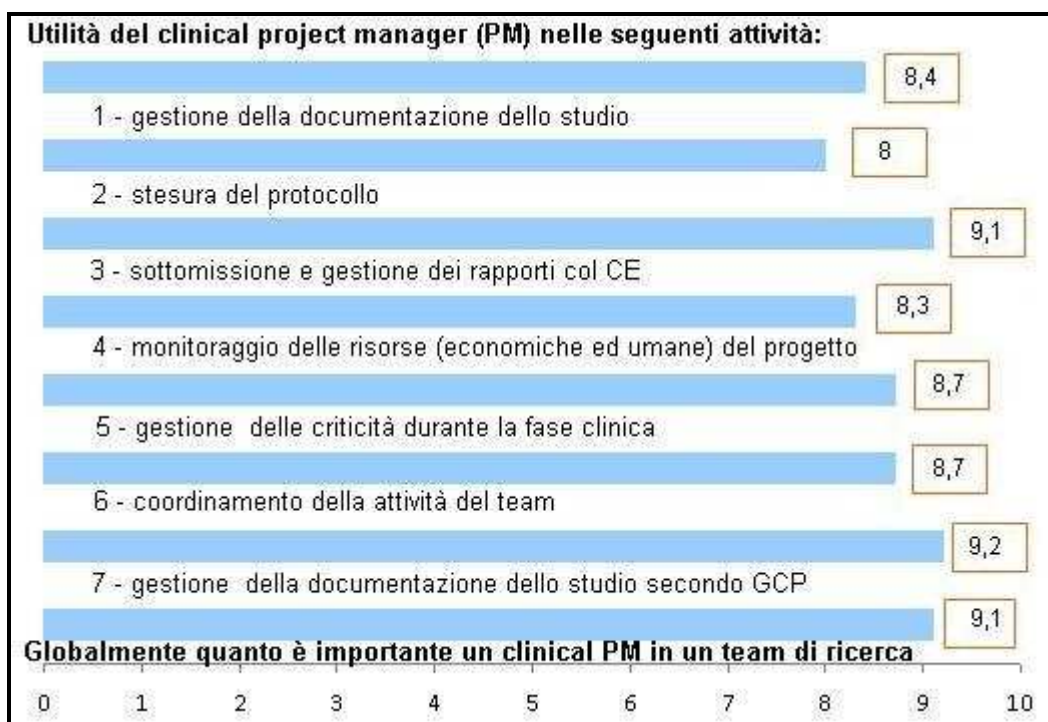
*5- nella gestione delle criticità che potrebbero emergere durante la fase clinica di un progetto?*

*6- nel coordinare le attività delle diverse figure di un team di progetto?*

*7- nel gestire la documentazione dello studio come richiesto da GCP?*

*Globalmente, quanto reputa importante che in un team di ricerca sia presente una figura di project manager?*

Nella FIGURA 14 viene riportata la media dei punteggi ottenuti ai quesiti:



**FIGURA 14:** risposte date all'indagine conoscitiva sull'utilità del clinical project manager nella gestione dei trial clinici

Come si può vedere le risposte date sono tutte nel range di valutazione ottimale, con una accentuata utilità della figura del clinical project manager riconosciuta nella gestione dei rapporti col Comitato Etico e nella gestione dei documenti in accordo alle GCP. Globalmente i ricercatori intervistati reputano molto utile la presenza di un clinical project manager all'interno di un team di ricerca.

# CAPITOLO 7

## Conclusione e sviluppi futuri

I numerosi e complessi aspetti regolatori che stanno alla base della ricerca clinica, nonché le metodologie e le procedure che le aziende farmaceutiche, per quanto riguarda gli studi profit, o i gruppi di ricerca indipendenti, per quanto riguarda gli studi no profit, hanno introdotto per gestire gli studi clinici in conformità alle GCP, hanno reso la ricerca clinica un campo estremamente complesso. L'aderenza alle GCP, al di là della complessità, ha portato però ad un enorme beneficio sia per i soggetti che partecipano agli studi fornendo una garanzia per la loro sicurezza e per i loro diritti, sia per gli sperimentatori, costituendo delle linee guida che, se attentamente seguite, garantiscono di ottenere dei risultati validi. Inoltre gli sperimentatori, abituati ad applicare le GCP nella conduzione degli studi clinici, hanno cominciato ad applicarle anche alla pratica clinica con evidente vantaggio per i pazienti. In ultima analisi, quindi, un'attività di ricerca condotta in modo rigoroso non è fine a sé stessa ma impatta positivamente sulla pratica clinica e sul modo di operare che il medico-sperimentatore mette in campo ogni giorno.

Chiaramente tutto ciò ha portato ad un considerevole aumento del carico di lavoro degli sperimentatori e alla loro sempre crescente necessità di essere affiancati nella attività di ricerca da professionisti che abbiano una formazione scientifica, conoscenze regolatorie e competenze di project management. Tale figura è il 'clinical project manager'.

Applicando la definizione di project management al campo della ricerca clinica, il clinical project management si può definire come l'applicazione di conoscenze (soprattutto in ambito regolatorio ed etico), abilità e tecniche, nonché l'elaborazione di strumenti (es. P.O.P.) per garantire che tutte le fasi di un trial clinico siano gestite in modo adeguato per il raggiungimento degli obiettivi, nel rispetto dei tempi, dei costi e delle GCP, al fine di assicurare la sicurezza dei soggetti che partecipano ai trial clinici e la qualità dei dati raccolti.

Durante il periodo di Dottorato sono stati gestiti, in qualità di clinical project manager, 3 studi clinici ed 1 studio pre-clinico condotti dalla Sezione di Endocrinologia, Diabetologia e Metabolismo del Dipartimento di Medicina dell'Università degli Studi di Verona.

Gli studi per i quali si è curato l'iter autorizzativo sono stati tutti approvati dai CE di riferimento; lo studio TOSCA, seguito invece nella fase clinica, è stato efficacemente supervisionato, come evidenziato dalla mancanza di significative criticità riscontrate dal monitor durante le visite di monitoraggio periodiche condotte presso il Centro.

Anche lo strumento messo a punto per la pianificazione e la gestione degli studi clinici (P.O.P), in queste prime fasi di utilizzo, ha dimostrato di essere efficace al raggiungimento degli obiettivi per cui è stato introdotto. Se poi si analizzano le risposte date dagli sperimentatori con cui si è collaborato relativamente all'utilità del clinical project manager in un team di ricerca si comprende che è opinione comune considerare la presenza di questa figura estremamente utile nella gestione degli studi clinici.

Alla luce di tutti questi risultati si può concludere che il clinical project manager è una figura di riconosciuta utilità tra gli sperimentatori e il cui contributo è di fondamentale importanza nella pianificazione degli studi, nella loro approvazione e successivamente nella loro gestione, garantendo che siano condotti secondo le GCP e la normativa in vigore, nei tempi stabiliti e con i costi preventivati. Beneficiano della presenza di questa figura nei team di ricerca non solo gli sperimentatori, ma anche i pazienti, le istituzioni e le aziende farmaceutiche quando coinvolte. Sembra quindi vantaggioso in futuro introdurre questa figura in tutti i team di ricerca, soprattutto se impegnati in molteplici studi.

## BIBLIOGRAFIA

1. Decreto Ministeriale 15 luglio 1997 n.162 'Recepimento delle linee guida dell'Unione europea di buona pratica clinica per l'esecuzione delle sperimentazioni cliniche dei medicinali' Supplemento Ordinario alla Gazzetta Ufficiale n.191 del 18 agosto 1997
2. Farrell B, Kenyon S, Shakur H. Managing clinical trials. *Trials* 2010, 11:78
3. European Medicines Agency – 4 August 2011 'Reflection paper on risk based quality management in clinical trials'
4. Hurst RT, Lee RW. Increased incidence of coronary atherosclerosis in pioglitazone group in type 2 diabetes mellitus: mechanisms and management. *Ann Intern Med* 2003, 139:824-34
5. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Intensive blood glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 1998; 352:837-853
6. Stratton IM, Adler AI, Neil AW et al. on behalf of the UK Prospective Diabetes Study Group. Association of glycemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35) *BMJ* 2000;32:405-412
7. Turner RC, Cull CA, Frighi V, Holman RR. Glycemic control with diet, sulphonylurea, metformin, or insulin in patients with type 2 diabetes mellitus: progressive requirement for multiple therapies (UKPDS 49). *JAMA* 1999, 281:2005-2012
8. Nathan DM, Buse JB, Davidson MB, Heine RJ, Holman RR, Sherwin R, Zinman B. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy. A consensus statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetologia* 2006;49:1711-1721
9. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Intensive blood glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes. (UKPDS 34) *Lancet* 1998;352:854-865
10. Parulkar A, Pendergrass ML, Granda-Ayala R, Lee TR, Fonseca VA. Non-hypoglycemic effects of thiazolidinediones. *Ann. Intern Med* 2001;134:61-71
11. Yki-Jarvinen H. Thiazolidinediones. *N Engl J Med* 2004; 351:1106-1118
12. Goldeberg RB, Kendall DM, Deeg MA, et al. A comparison of lipid and glycemic effects of pioglitazone and rosiglitazone in patients with type 2 diabetes and dyslipidemia. *Diabetes Care* 2005, 28:1547-1554



13. Finegood DT, McArthur MD, Koywang D. et al. Beta-cell mass dynamics in Zucker diabetic fatty rats. Rosiglitazone prevents the rise in net cell death. *Diabetes* 2001;50:1021-1029
14. Ovalle F, Bell DSH. The effect of rosiglitazone versus insulin on the pancreatic beta-cell function of subjects with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27:2585-2589
15. Solomon DH, Winkelmayr WC. Cardiovascular risk and the Thiazolidinediones .Dejà vu or all over again? *JAMA* 2007, 298:1216-18
16. Nissen EM, Volsky K, Effect of rosiglitazone and risk of myocardial infarction and death from cardiovascular causes. *N Engl J Med* 2007, 356: 2457
17. Lincoff AM, et al. Pioglitazone and risk of cardiovascular events in patients with type 2 diabetes mellitus . A metaanalysis of randomised trials. *JAMA* 2007, 298:1180
18. A. Sinha, S. Kling, A review of adolescent obesity: prevalence, etiology, and treatment. *Obes Surg* 2009, 19, 113
19. A. M. Cali, S. Caprio Prediabetes and type 2 diabetes in youth: an emerging epidemic disease? *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2008, 15, 123
20. V. Burke Obesity in childhood and cardiovascular disease. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2006, 33, 831
21. R. Weiss et al., Obesity and the Metabolic Syndrome in Children and Adolescents. *N Engl J Med* 2004, 350, 2362
22. R. Weiss, S. Caprio. The metabolic consequences of childhood obesity. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2005, 19, 405
23. A. Sbarbati et al., Obesity and Inflammation: Evidence for an Elementary Lesion. *Pediatrics* 2006, 117, 220
24. R. Weiss et al., Low adiponectin levels in adolescent obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 2003, 88, 2014
25. Weiss et al., The “Obese Insulin-Sensitive” Adolescent: Importance of Adiponectin and Lipid Partitioning. *J Clin Endocrinol Metab* 2005, 90, 3731
26. C. Maffeis et al., Fat cell size, insulin sensitivity, and inflammation in obese children. *J Pediatr* 2007, 151, 647
27. A. D. Sniderman, R. Bhopal, D. Prabhakaran, N. Sarrafzadegan, A. Tchernof. Why might South Asians be so susceptible to central obesity and its atherogenic consequences? The adipose tissue overflow hypothesis. *Int J Epidemiol*, Feb;36(1):220-5
28. C. P. Wang, F. M. Chung, S. J. Shin, Y. J. Lee. Congenital and Environmental Factors Associated with Adipocyte Dysregulation as Defects of Insulin Resistance. *Rev Diabet Stud*

2007 4, 77

29. S. Gordon, P. R. Taylor. Monocyte and macrophage heterogeneity. *Nat Rev Immunol* 2005, 5, 953
30. S. Gordon, Alternative activation of macrophages *Nat Rev Immunol* 2003, 3, 23
31. R. Weiss, F. R. Kaufman. Metabolic complications of childhood obesity: identifying and mitigating the risk. *Diabetes Care* 31 Suppl 2, 2008, S310 A. M. Cali et al., *Diabetes Care* 30, 3093 (Dec, 2007)
32. F. Dangardt, W. Osika, R. Volkmann, L. M. Gan, P. Friberg, Obese children show increased intimal wall thickness and decreased pulse wave velocity *Clin Physiol Funct Imaging* 2008, 28, 287
33. C. Giannini et al., Obese related effects of inflammatory markers and insulin resistance on increased carotid intima media thickness in pre-pubertal children. *Atherosclerosis* 2008, 197, 448
34. R. Kelishadi, M. Hashemi, N. Mohammadifard, S. Asgary, N. Khavarian, Association of changes in oxidative and proinflammatory states with changes in vascular function after a lifestyle modification trial among obese children. *Clin Chem* 2008, 54, 147
35. D. B. Zilversmit, Atherogenesis: a postprandial phenomenon. *Circulation* 1979, 60, 473
36. A. Alipour, J. W. Elte, H. C. van Zaanen, A. P. Rietveld, M. Castro Cabezas, Novel aspects of postprandial lipemia in relation to atherosclerosis. *Atheroscler Suppl* 2008, 9, 39
37. A. Ceriello et al., Evidence for an Independent and Cumulative Effect of Postprandial Hypertriglyceridemia and Hyperglycemia on Endothelial Dysfunction and Oxidative Stress Generation : Effects of Short- and Long-Term Simvastatin Treatment. *Circulation* 2002, 106, 1211
38. G. Arcaro et al., Insulin Causes Endothelial Dysfunction in Humans : Sites and Mechanisms. *Circulation* 2002, 105, 576
39. E. F. Kenny, L. A. O'Neill, Signalling adaptors used by Toll-like receptors: An update. *Cytokine* 2008, 43, 342
40. H. Brunner et al., Endothelial function and dysfunction. Part II: Association with cardiovascular risk factors and diseases. A statement by the Working Group on Endothelins and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *J Hypertens* 2005, 23, 233
41. S. E. Berry et al., Impaired Postprandial Endothelial Function Depends on the Type of Fat Consumed by Healthy Men. *J Nutr* 2008, 138, 1910
42. X. Wang, J. C. Keith, Jr., A. D. Struthers, G. Z. Feuerstein, Assessment of arterial stiffness,

- a translational medicine biomarker system for evaluation of vascular risk. *Cardiovasc Ther* 2008, 26, 214
43. M. Clegg et al., Exercise and postprandial lipaemia: effects on peripheral vascular function, oxidative stress and gastrointestinal transit. *Lipids Health Dis* 2007, 6, 30
  44. F. Mariotti et al., Meal amino acids with varied levels of arginine do not affect postprandial vascular endothelial function in healthy young men. *J Nutr* 2007, 137, 1383
  45. C. M. Mc Clean et al., effect of acute aerobic exercise on pulse wave velocity and oxidative stress following postprandial hypertriglyceridemia in healthy men. *Eur J Appl Physiol* 2007, 100, 225
  46. Freeman JV, Cole TJ, Chinin S, Jones PRM, White EM, Prece MA. Cross sectional stature and weight reference curves for the UK, 1990. *Archives of Disease in Childhood* 1995, 73, 17 – 24
  47. J. Rahier, Y. Guiot, R. M. Goebbels, C. Sempoux, J. C. Henquin 2008 Pancreatic beta-cell mass in European subjects with type 2 diabetes. *Diabetes, Obesity and Metabolism* 10(4):32-42
  48. H. Sakuraba, H. Mizukami, N. Yagihashi, R. Wada, C. Hanyu, S. Yagihashi 2002 Reduced beta-cell mass and expression of oxidative stress-related DNA damage in the islet of Japanese type 2 diabetic patients. *Diabetologia* 45:85-96
  49. A. E. Butler, J. Janson, S. Bonner-Weir, R. Ritzel, R. A. Rizza, P. C. Butler 2003 Beta cell deficit and increased beta cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. *Diabetes* 52:102-110
  50. S. Deng, M. Vatamaniuk, X. Huang, N. Doliba, M.M. Lian, A. Frank, E. Velidedeoglu, N. M. Desai, B. Koeberlein, B. Wolf, C. F. Barker, A. Naji, F. M. Matschinsky, J. F. Markmann 2004 Structural and functional abnormalities in the islets isolated from type 2 diabetic subjects. *Diabetes* 53:624-632
  51. K. H. Yoon, S. H. Ko, J. H. Cho, J. M. Lee, Y. B. Ahn, K. H. Song, S. J. Yoo, M. I. Kang, B. Y. Cha, K. W. Lee, H. Y. Son, S. K. Kang, H. S. Kim, I. K. Lee, S. Bonner-Weir 2003 Selective beta-cell loss and alfa-cell expansion in patients with type 2 diabetes mellitus in Korea. *The journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 88(5):2300-2308
  52. J. Rahier, M. Goebbels, J. C. Henquin 1983 Cellular composition of the human diabetic pancreas. *Diabetologia* 24:366-371
  53. A. Lorenzo, B. Razzaboni, G. C. Weir, B. A. Yanker 1994 Pancreatic islet cell toxicity of amylin associated with type 2 diabetes mellitus. *Nature* 368(6473):756-760
  54. K. J. Chang-Chen, R. Mullur, E. Bernal-Mizrachi 2008 Beta cell failure as a complication

- of diabetes. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders* 9:329-343
55. J. E. Brown, S. Thomas, Janet E Digby and Simon J Dunmore 2002 Glucose induces and leptin decreases expression of uncoupling protein-2 mRNA in human islets. *FEBS Letters* 513(2-3):189-192
  56. J. L. Leahy, G. C. Weir 1991 Beta-cell dysfunction in hyperglycaemic rat models: recovery of glucose-induced insulin secretion with lowering of the ambient glucose level. *Diabetologia* 34(9):640-647
  57. B. W. Lee, H. W. Kang, J. S. Heo, S. H. Choi, S. Y. Kim, Y. K. Min, J. H. Chung, M. K. Lee, M. S. Lee, K. W. Kim 2006 Insulin secretory defect plays a major role in the development of diabetes in patients with distal pancreatectomy. *Metabolism* 55(1):135-141
  58. L. C. Bollheimer, R. H. Skelly, M. W. Chester, J. D. McGarry, C. J. Rhodes 1998 Chronic exposure to free fatty acid reduces pancreatic beta cell insulin content by increasing basal insulin secretion that is not compensated for by a corresponding increase in proinsulin biosynthesis translation. *The Journal of Clinical Investigation* 101(5):1094–1101
  59. B. Ritz-Laser, P. Meda, I. Constant, N. Klages, A. Charollais, A. Morales, C. Magnan, A. Ktorza, J. Philippe 1999 Glucose-induced preproinsulin gene expression is inhibited by the free fatty acid palmitate. *Endocrinology* 140(9):4005-4014
  60. M. Shimabukuro, Y. T. Zhou, M. Levi, R. H. Unger 1998 Fatty acid-induced  $\beta$  cell apoptosis: A link between obesity and diabetes. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* 95(5):2498–2502
  61. K. Katsuyama, M. Shichiri, F. Marumo, Y. Hirata 1998 Role of nuclear factor-kB activation in cytokine- and sphingomyelinase-stimulated inducible nitric oxide synthase gene expression in vascular smooth muscle cells. *Endocrinology* 139(11):4506-4512
  62. R. Lupi, F. Dotta, L. Marselli, S. Del Guerra, M. Masini, C. Santangelo, G. Patané, U. Boggi, S. Piro, M. Anello, E. Bergamini, F. Mosca, U. Di Mario, S. Del Prato, P. Marchetti 2002 Prolonged exposure to free fatty acids has cytostatic and pro-apoptotic effects on human pancreatic islets. *Diabetes* 51:1437-1442
  63. P. C. Tsotra, C. Tsigos, S. A. Raptis 2001. TNF-alpha and leptin inhibit basal and glucose-stimulated insulin secretion and gene transcription in the HIT-T15 pancreatic cells. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders* 25:1018-1026
  64. K. Hostens, D. Pavlovic, Y. Zambre, Z. Ling, C. Van Schravendijk, D. L. Eizirik et al. 1999 Exposure of human islets to cytokines can result in disproportionately elevated proinsulin release. *The Journal of Clinical Investigation* 104:67-72
  65. R. N. Kulkarni, Z. L. Wang, R. M. Wang, J. D. Hurley, D. M. Smith, M. A. Ghatei et al.

- 1997 Leptin rapidly suppresses insulin release from insulinoma cells, rat and human islets and, in vivo, in mice. *The Journal of Clinical Investigation* 100:2729-2736
66. H. Shimizu, K. Ohtani, Y. Kato, M. Mori 2000 Interleukin-6 increases insulin secretion and preproinsulin secretion and preproinsulin mRNA expression via  $Ca^{2+}$ -dependent mechanism. *The Journal of Endocrinology* 166:121-126
  67. M. Anello, R. Lupi, D. Spampinato, S. Piro, M. Masini, U. Boggi, S. Del Prato, A. M. Rabuazzo, F. Purrello, P. Marchetti 2005 Functional and morphological alterations of mitochondria in pancreatic beta cells from type 2 diabetic patients. *Diabetologia* 48(2):282-289
  68. P. Marchetti, S. Del Guerra, L. Marselli, R. Lupi, M. Masini, M. Pollera, M. Bugliani, U. Boggi, F. Vistoli, F. Mosca, S. Del Prato 2004 Pancreatic islets from type 2 diabetic patients have functional defects and increased apoptosis that are ameliorated by metformin. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 89(11):5535-5541
  69. S. Del Guerra, R. Lupi, L. Marselli, M. Masini, M. Bugliani, S. Sbrana, S. Torri, M. Pollera, U. Boggi, F. Mosca, S. Del Prato, P. Marchetti 2005 Functional and molecular defects of pancreatic islets in human type 2. *Diabetes* 54(3):727-735
  70. J. M. Lin, M. E. Fabregat, R. Gomis, P. Bergsten 2002 Pulsatile insulin release from islets isolated from three subjects with type 2 diabetes. *Diabetes* 51(4):988-993
  71. Arne Skjold, Anders Kristoffersen, Torgil R Vangberg, Olav Haraldseth, Per Jynge, Henrik BW Larsson. An Apparent Unidirectional Influx Constant for Manganese as a Measure of Myocardial Calcium Channel Activity. *JOURNAL OF MAGNETIC RESONANCE IMAGING* 24:1047–1055 (2006)
  72. Gimi, B., L. Leoni, J. Oberholzer, M. Braun, J. Avila, Y. Wang, T. Desai, L. H. Philipson, R. L. Magin, and B. B. Roman. Functional MR microimaging of pancreatic beta-cell activation. *Cell Transplant* 15:195-203, 2006
  73. Patrick F. Antkowiak, Sarah A. Tersey, Jeffrey D. Carter, Moriel H. Vandsburger<sup>1</sup>, Jerry L. Nadler, Frederick H. Epstein and Raghavendra G. Mirmira. Non-invasive Assessment of Pancreatic  $\beta$  Cell Function In Vivo Using Manganese-Enhanced Magnetic Resonance Imaging. *Am J Endocrinol Metab* 2009 March; 296(3): E573-578.
  74. Muscogiuri G, Kamat A, Balas B, Giaccari A, DeFronzo RA, Musi N, Katz MS.  $\beta$ -Adrenergic Responsive Induction of Insulin Resistance in Liver of Aging Rats. *Endocr Res.* 2011;36(2):74-82. Giaccari A, Morviducci L, Zorretta D, Sbraccia P, Leonetti F, Caiola S, Buongiorno A, Bonadonna RC, Tamburrano G. In vivo effects of glucosamine on insulin secretion and insulin sensitivity in the rat: possible relevance to the maladaptive responses

- to chronic hyperglycaemia. *Diabetologia*. 1995 May;38(5):518-24.
75. Guida al Project Management Body of Knowledge (PMBOK) Terza edizione – Project Management Institute
76. Organizzare e Gestire Progetti – Competenze per il Project Management. Baglieri, Biffi, Coffetti, Ondoli, Pecchiari, Pilati, Poli, Sampietro. Etas, 2008
77. Payne JM, France KE, Henley N, D'Antoine H, Bartu AE, Elliott EJ, Bower C. Researchers' experience with project management in health and medical research: Results from a post-project review. *BMC Public Health*, 2011; 11:424
78. Rico-Villademoros F, Hernando T, Sanz JL, Lopez-Alonso A, Salamanca O, Camps C, Rosell R. The role of the clinical research coordinator-data manager-in oncology clinical trials. *BMC Med Res Methodol* 2004; 4:6
79. Tomino C. Manuale tecnico-pratico sulla sperimentazione clinica dei medicinali. Critical Medicine Publishing Editore, 2004
80. Decreto Legislativo 24 giugno 2003 n.211 'Attuazione della direttiva 2001/20/CE relativa all'applicazione della buona pratica clinica nell'esecuzione delle sperimentazioni cliniche di medicinali per uso clinico' pubblicato nella Gazzetta Ufficiale n.184 del 09 agosto 2003 supplemento ordinario n.130
81. Decreto Ministeriale 21 dicembre 2007 n.51 'Modalità di inoltro della richiesta di autorizzazione all'Autorità competente, per la comunicazione di emendamenti sostanziali e la dichiarazione di conclusione della sperimentazione clinica e per la richiesta di parere al comitato etico' pubblicato nel supplemento ordinario alla Gazzetta Ufficiale n.53 del 03 marzo 2008
82. Decreto Ministeriale 17 dicembre 2004 'Prescrizioni e condizioni di carattere generale, relative all'esecuzione delle sperimentazioni cliniche dei medicinali, con particolare riferimento a quelle ai fini del miglioramento della pratica clinica, quale parte integrante dell'assistenza sanitaria' pubblicato nella Gazzetta Ufficiale del 22 febbraio 2005
83. Determinazione AIFA del 20 marzo 2008 'Linee guida per la classificazione e conduzione degli studi osservazionali sui farmaci' pubblicata nella Gazzetta Ufficiale del 31 marzo 2008
84. 10° Rapporto nazionale 2011 AIFA sulla sperimentazione clinica dei medicinali in Italia
85. Hebermann B, Broome M, Pryor ER, Wagler Ziner K. Research coordinators experiences with scientific misconduct and research integrity. *Nurs. Res.* 2010 jan-feb; 59(1): 51-57
86. Ballini L. Il knowledge broker: figura chiave della ricerca traslazionale in via di definizione. Dalla ricerca alla salute – politiche sanitarie. Vol.10 n.3 luglio-settembre 2009